

Új kinin- és ferrocénszármazékok: szintézis, szerkezet, DFT-modellezés, biológiai hatás és organokatalitikus aktivitás

Doktori értekezés

Írta: Károlyi Benedek Imre

Témavezetők: Dr. Csámpai Antal,
Dr. Sohár Pál

Programvezető: Dr. Perczel András

Iskolavezető: Dr. Inzelt György



ELTE-TTK

Budapest

2012

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék -----	2
1. Bevezetés és általános célkitűzéseim -----	3
2. Irodalmi előzmények -----	5
2. I. Kininszármazékok és a C ₂ -szimmetriájú vegyületek helye a gyógyszer- és rákkutatásban-----	5
2. II. Egy organokatalitikus reakció kulcslépésének DFT analízise-----	9
2. III. Különböző piridazinonok alkalmazási lehetőségei a rákgyógyászat területén-----	13
3. Saját munka és eredmények -----	16
3. a. Az alkalmazott eljárások és szerkezet-meghatározó módszerek általános ismertetése-----	16
3. I. 1. Módosított kininek és C ₂ -szimmetriájú bisz-kininszármazékok szintézise-----	18
3. I. 2. Elméleti modellezés-----	21
3. I. 3. Szerkezetfelderítés-----	22
3. I. 4. Biológiai vizsgálatok: vegyületeim <i>in vitro</i> aktivitásai emberi rákos sejtvonalakon-----	22
3. I. 5. Kísérleti rész-----	24
3. II. 1. Organokatalitikus reakció vizsgálatára alkalmazott számítási módszerek-----	30
3. II. 2. Eredmények ismertetése-----	31
3. II. 3. Kísérleti rész-----	38
3. III. 1. Ferrocént és piridazinon egységet tartalmazó új vegyületek szintézise-----	40
3. III. 2. Az előállított vegyületek szerkezeti felderítése, röntgendiffrakciós eredmények-----	46
3. III. 3. Biológiai vizsgálatok: vegyületeim <i>in vitro</i> aktivitásai emberi rákos sejtvonalakon-----	47
3. III. 4. Kísérleti rész-----	50
4. Összefoglalás és kitekintés -----	62
5. Summary -----	63
6. Köszönetnyilvánítás -----	64
7. Hivatkozások -----	65

1. Bevezetés és általános célkitűzéseim

Ebben a fejezetben ismertetem dolgozatom szerkezetét, a célokat, amit a kutatómunka elején témavezetőmmel kitűztünk, és az eredményeket, amiket a kutatásom során elértem. Amint majd a későbbiekben kiderül, dolgozatom felépítése alapvetően rendhagyó. Ennek oka, hogy három, egymástól valamelyest távol eső kutatási témám eredményeit ismertetem – a közöttük lévő logikai kapcsolatot lentebb vázolom. Annak érdekében, hogy a leírtakat az olvasó könnyebben követhesse, a dolgozat gerincét adó irodalmi részt és a saját eredményeimet bemutató fejezetet 3-3 fő részre osztottam. Ezzel a szerkezettel jobban el tudtam választani az egyes problémaköröket. A kérdéses alfejezetekhez témánként egy-egy római számot rendeltem (I, II, III), így reményeim szerint az olvasó gyorsan el tud igazodni, hogy melyik témáról van szó a felvezetésben, vagy éppen a kísérleti részben.

A dolgozat szerkezetéből következik, hogy a rövidebb irodalmi részben nem ismertetem mélyen azokat a szintéziseket, amik reprodukcióját megkívánta tőlem a kutatás. Ennek az az oka, hogy egy szintézis sorozat első pár lépése (irodalmi reprodukció) akár 30-40 oldal távolságra kerülhet a befejező lépésektől (saját kísérlet új anyag előállítására), ami logikailag teljességgel követhetlenné tenné a dolgozatot, és az olvasótól rengeteg oda-vissza lapozgatást kívánna meg az átlátáshoz. Így szintéziseim reprodukciós része a saját munkába került (természetesen megfelelően hivatkozva), míg az irodalmi részt inkább egy olvasmányos, de nem történelemkönyv-szagú értekezésnek szerettem volna megírni, amiben a kérdéses témákat aktuális eredményekkel és felhasználási területekkel mutatom be. A dolgozatban ismertetett vegyületeket egységesen arab számokkal látom el az egyszerű eligazodás érdekében.

Kutatási témám a munka során alapvetően módosult, de erre az irányváltásra sem a publikált közleményekben, sem a dolgozat későbbi fejezeteiben nem térek ki. Ugyanakkor úgy vélem, hogy érdemes az olvasót megismertetni kezdeti céljaimmal, mert érdekes, a helyes irányváltásoknak köszönhetően sikeres témák születtek belőle. Kezdeti témám az enantioszelektív organokatalízis volt, s elsődleges célomként ferrocénnel összekötött dimer, C_2 -forgástengellyel rendelkező, kinin alapú katalizátorok szintézisét, alkalmazását foglalmaztuk meg. A célkitűzést két dolog motiválta: az organokatalízis reneszánsza és a

kutatócsoportunk ferrocénvegyületek előállítása terén felhalmozott komoly ismeret-mennyisége.

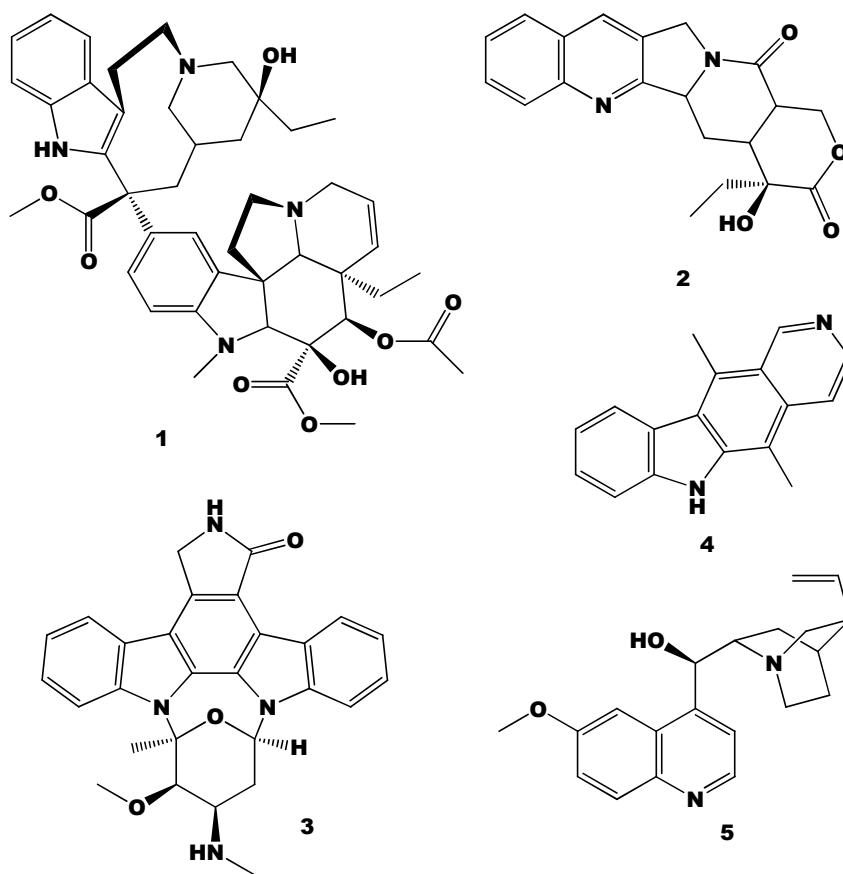
Az elsődleges célkitűzés (katalizátorok előállítása) elérése után hamar kiderült, hogy a kívánt tesztreakciókban molekuláim „nem teljesítenek jól” (katalitikusan nem aktívak), így módosítani kellett a céljainkat. Adva volt néhány, ~1000 g/mol tömegű ferrocénvegyület, amikről kiderült, hogy rákos sejtvonalakon igen kedvező citotoxikus és citosztatikus tulajdonságokkal bírtak. Emiatt a kezdeti kutatási témámból két külön irány született: a későbbiekben ismertetésre kerülő I. téma ferrocént és kinint tartalmazó antiproliferatív hatású anyagok szintézisének-, szerkezetének- és hatásának vizsgálatával foglalkozik, míg a II. témában új megközelítésből kívántam vizsgálni az organokatalízis kérdéses tárgykörét. Itt stratégiám a következő volt: számítógépes DFT vizsgálatokkal kívántam a megcélozható katalizátorok viselkedését tanulmányozni a korábban alkalmazott tesztreakcióm egy lépésében. Ez a gyógyszerkutatásban jól ismert virtuális szűrés alkalmazása a saját problémámra, azzal a nagy különbséggel, hogy én a kulcs (reagens és reaktáns) köré igyekeztem megtalálni a legjobb zárat (katalizátor). A kapott számítási eredmények alapján általános következtetéseket tudtam levonni a katalizátor-család működéséről, és ki tudtam választani egy új célvegyületet, amit érdemes szintetizálni - ezt a munkát mutatom be a II. témában.

Harmadik témám (III.) már az első téma sikereiből táplálkozott, eleve bioaktív ferrocén vegyületek szintézise és biokémiai vizsgálata volt a cél. Ebben a projektben új, a ferrocén- és piridazinon egységeket tartalmazó molekulák voltak a célvegyületek, melyek szintézisét, szerkezetét és együttműködés keretében mért *in vitro* eredményeit ismertetem a III. fejezetben.

2. Irodalmi előzmények

2. I. Kininszármazékok és a C₂-szimmetriájú vegyületek helye a gyógyszer- és rákkutatásban

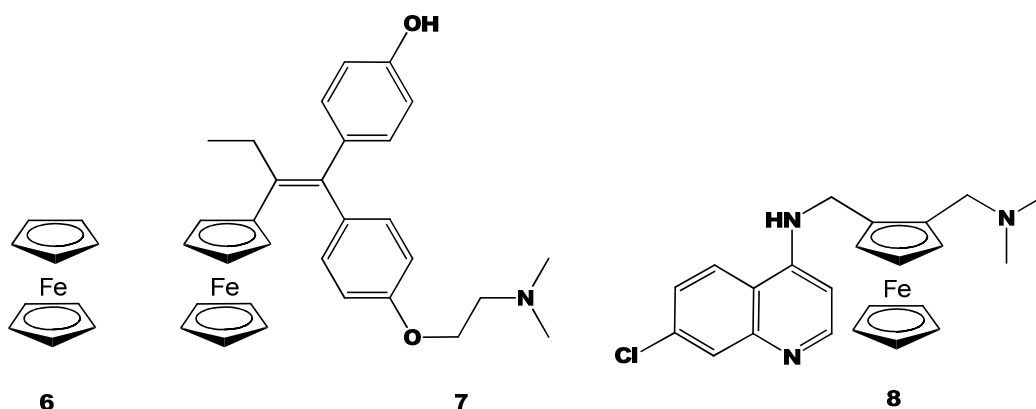
A kemoterápia, hatékonyságát tekintve, talán a legfontosabb módszer a rákgyógyászat terén. A preparatív kémia egymástól igen távol eső területei molekulák széles tárházát hadrendbe állítva (alkaloidok, heterociklusos-, fémorganikus vegyületek, peptidek) tudnak sorra eredményt felmutatni korunk egyik leggyakoribb halálokat adó betegségével szemben. Súlyosan beteg emberek millióinak életét lehet meghosszabbítani, minőségében javítani, vagy akár a betegségét teljes mértékben orvosolni egy-egy vegyülettel, melynek előállítása olyan cél, ami az ezen a területen dolgozó preparatív kémikusok munkáját hivatássá emeli. A tumorok elleni harcban felhasználható molekulák között szép számban találhatunk természetes eredetű alkaloidokat és az adott alapváz módosításával szintetizált vegyületeket. Tipikus példákat mutat be ilyen alkaloidokra¹ az 1. ábra.



1. ábra: Számozási sorrendben a vinblastine, camptothecine, staurosporine, ellipticine és kinin szerkezete

A cinkona alkaloidok (5) is bizonyítottan hatásos, régóta ismert antimaláriás² és antibakteriális³ szerek, emellett évtizedek óta dokumentált alkalmazásuk a rák-kimutatásban⁴, a hagyományos- és kombinációs kemoterápiában⁵. Az öt felsorolt alkaloidon jól látszik, hogy bár szerkezetükben eltérnek, a fő építőköveik visszatérő elemek: az indolváz, a kinolin- és az izokinolingyűrű. Emellett nagyon gyakori, hogy kiralitáscentrumokat tartalmaznak, ami nagyon megnehezíti hatékony totálszintézisük kidolgozását.

Érdekes, hogy az előzőektől különböző, a természetben teljesen ismeretlen fémorganikus vasvegyület, a ferrocén (6) különböző származékai ugyancsak ígéretesek ezen a téren⁶, sokrétű biológiai hatásuknak⁷ köszönhetően. Ezt két, farmakológiai fontos molekula példáján kívánom bemutatni; ezek a ferrocifen (7) és a ferroquin (8). Szerkezetüket és a ferrocén alapvázát a 2. ábra mutatja. A ferrocifen⁸ (7) a tamoxifen közeli analógja, melynek egyik benzolgyűrűje helyett ferrocén kapcsolódik a sztirolrészelethez. Jelentősége, többek között, tüdőrák-sejtekre gyakorolt antiproliferációs tulajdonságának köszönhető⁹, továbbá, hogy az ösztrogén-receptorokba jól illeszkedik¹⁰. A ferroquin (8) antimaláriás hatása a kinin (5) főbb farmakofórijait magába foglaló szerkezetén alapul¹¹. A vegyület a ferrocén miatt annyira eltér a témában alkalmazott eddigi gyógyszerektől, hogy a betegség felszámolását nagymértékben gátló keresztrezisztencia (adott kórokozó „A” gyógyszerrel kezelve újabb, „B” gyógyszerrel szemben is rezisztenssé válik) jóval kisebb eséllyel jelentkezik¹². A téma előrehaladottságát jól jelzi, hogy doktori értekezésem írásakor a vegyület már megfelelt a kiterjedt fázis IIb vizsgálatok által támasztott követelményeknek.

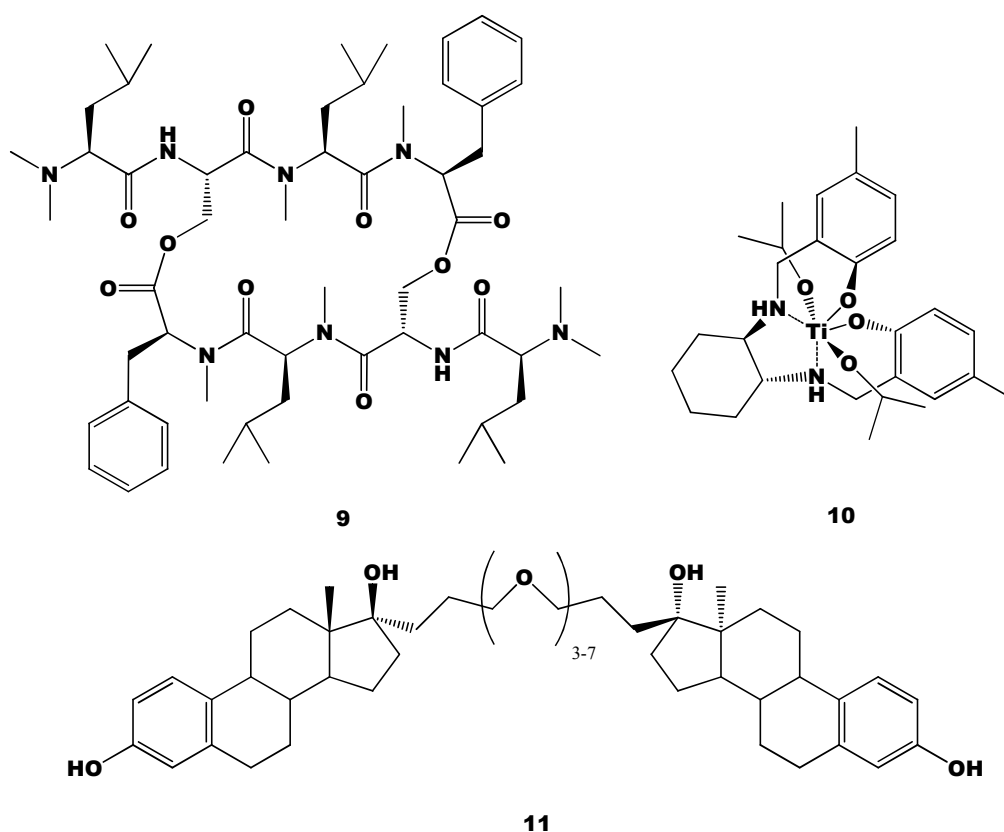


2. ábra: A ferrocén (6), hidroxi-ferrocifen (7) és ferroquin (8) szerkezete

Az általam szintetizált vegyületek közös építőelemei a kininrészlet (egy, kettő vagy három), a hidrofób aromás rendszer és az ezeket összekötő hidrofíl kapcsolóelem, ami lehet amid, karbamid, tiokarbamid vagy acil-tiokarbamid. Az aril-karbamidok választása

szerencsés, mert rákellenes hatásuk van¹³, ugyanis tubulin ligandumok, így a mitózisban fontos szerepet betöltő tubulin-polimerizációt megakadályozhatják. Emellett karbamid- és tiokarbamid prodrugok (szervezeten belül, metabolízis útján előálló bioaktív molekulák prekursorai) a melanocitákra (melanint termelő sejt) ható enzim prodrug terápia (MDEPT) ígéretes jelöltjei lehetnek¹⁴. A tiokarbamidon alapuló szerkezetek között találunk hatékony leukémia ellenes vegyületeket¹⁵. Az acil-tiokarbamidok antiproliferatív és citotoxikus hatását¹⁶ is kiemelem – ezen terület fontosságát több szabadalom jelzi¹⁷.

Figyelemre méltó, hogy számos hatásos gyógyszerjelöltnek C₂-forgástengelye van¹⁸; kiragadott példaként említhető ciklopeptid (**9**), titán(IV)-fenolát (**10**) vagy éppen szteránvázas dimer (**11**), mint azt a 3. ábra mutatja.



3. ábra: C₂-forgástengellyel rendelkező, változatos struktúrájú gyógyszerjelöltek

A biszkinolinok is ide sorolhatók, ezek antimaláriás hatását több kutatócsoport is vizsgálta¹⁹. Megnövekedett hatékonyságukat a „monomer” molekulával szemben kétféle módon magyarázhatjuk. Lehetséges, hogy az aktív centrum is rendelkezik egy lokális belső szimmetriával: például két nagyon hasonló peptid domén kapcsolódik össze. Másik magyarázat lehet a „monomer” hatását csökkentő, kritikus fizikai kémiai paraméter előnyös

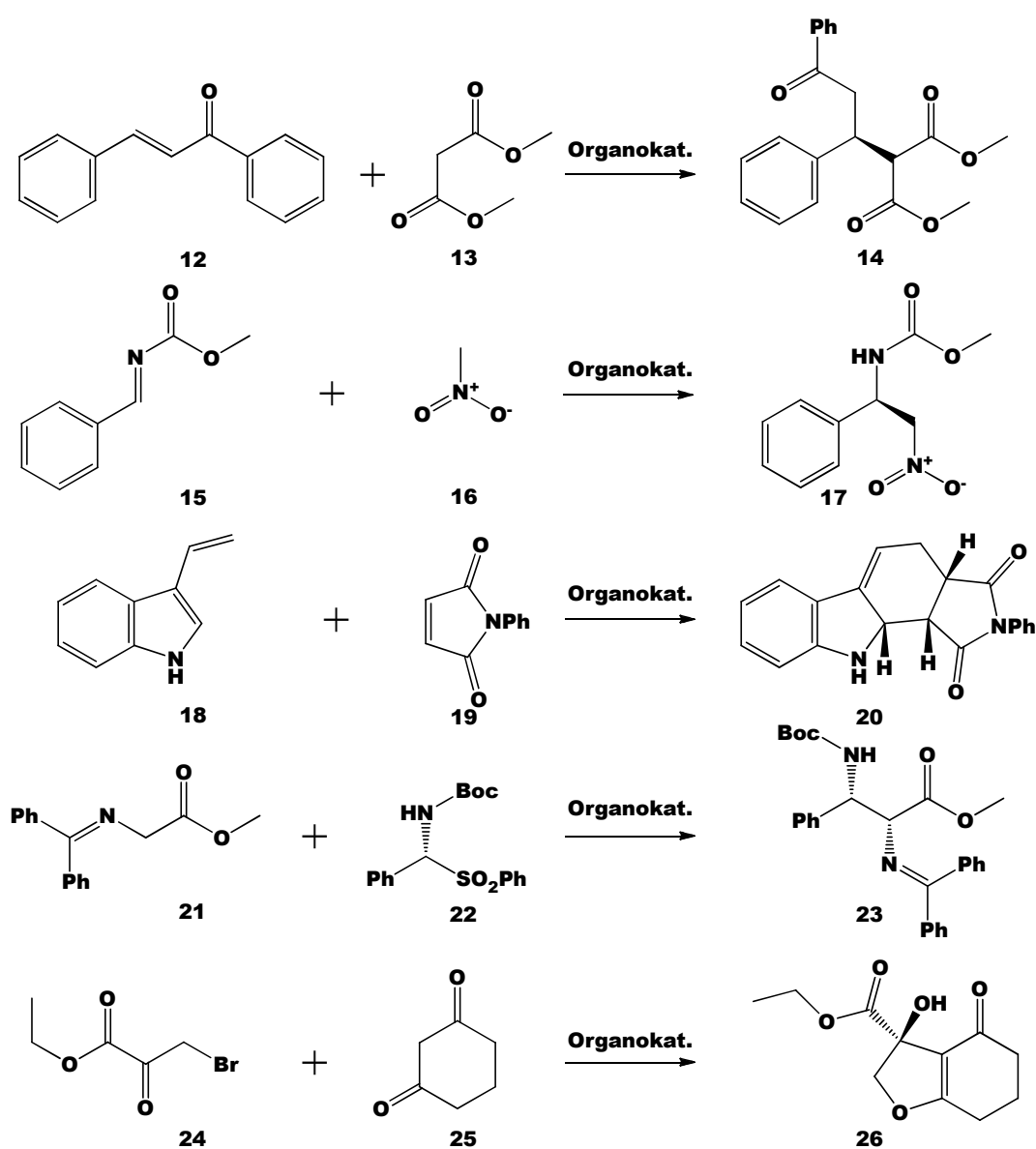
megváltozása. A kinolinok hatásmechanizmusa érdekes: az embert megtámadó parazita számára létkérdés, hogy az emberi szervezetből nyert hemoglobinnál a hem részt kristályos formában, hemozinként tárolja, vagy lebontsa oxidáció útján. Ha ezt nem teszi meg, az elfogyasztott hem mérgeanyagként a parazita életét veszélyezteti. Mind az oxidációs, mind a krisztallizációs mechanizmust gátolják az egyes kinolinok. Ebben az esetben a C₂-forgástengellyel „összekötött” dimerek nem múlták felül a már piaci forgalomban lévő „monomereket”, ugyanakkor a már korábban említett keresztrezisztencia szempontjából alkalmazásuk előnyösnek mutatkozik.

2. II. Egy organokatalitikus reakció kulcslépésének DFT analízise

Az organokatalízisnek számos előnye van a hagyományos, többségében fémalapú katalizátorokkal szemben, „zöldebb” volta miatt. A katalizátorok ezen családfájának képviselőiről általánosan elmondható, hogy kevésbé mérgezőek, könnyen alkalmazhatóak és kezelhetőek, továbbá robosztusabbak, mint a fémtartalmú társaik, miközben katalitikus aktivitásuk, hatékonyságuk paraméterei hasonlóak, bár sebességük (*turn over frequency*) gyakran kisebb. Biomimetikus jellegüknél fogva gyakran mesterséges enzimekként is emlegetik őket. Wynberg és Hiemstra²⁰ sikerrel alkalmazták cinkona alapú molekuláikat aszimmetrikus organokatalízisben, rámutatva arra, milyen rejtett lehetőségeket lehet kiaknázni ilyen katalizátorokkal az enantioszelektív átalakításokban. Azóta reakciók széles köréről mutatták ki, hogy jól megválasztott és könnyen elérhető kinin alapú molekulák katalizátorként hathatnak rájuk^{21,22}. A katalitikus hatást szerkezetük elemzésével magyarázhatjuk: ezek a molekulák bifunkciósak, a megfelelően elhelyezkedő Lewis-bázis (legmagasabb betöltött molekulapálya [HOMO] növelő) és Lewis-sav (legalacsonyabb nem betöltött molekulapálya [LUMO] csökkentő) részleteik sem nem közel, sem nem távol, a sem nem túl merev, sem nem túl hajlékony vázon foglalnak helyet. Ez az ideális kettős jelleg az oka a katalitikus aktivitásnak, míg a másik előny, az alkalmazott váz királis jellege²³. Mivel gyakran természetes eredetű molekulákról van szó, így a katalizátorok kiindulási anyaga legtöbbször enantiotiszta formában áll a preparatív vegyész rendelkezésére.

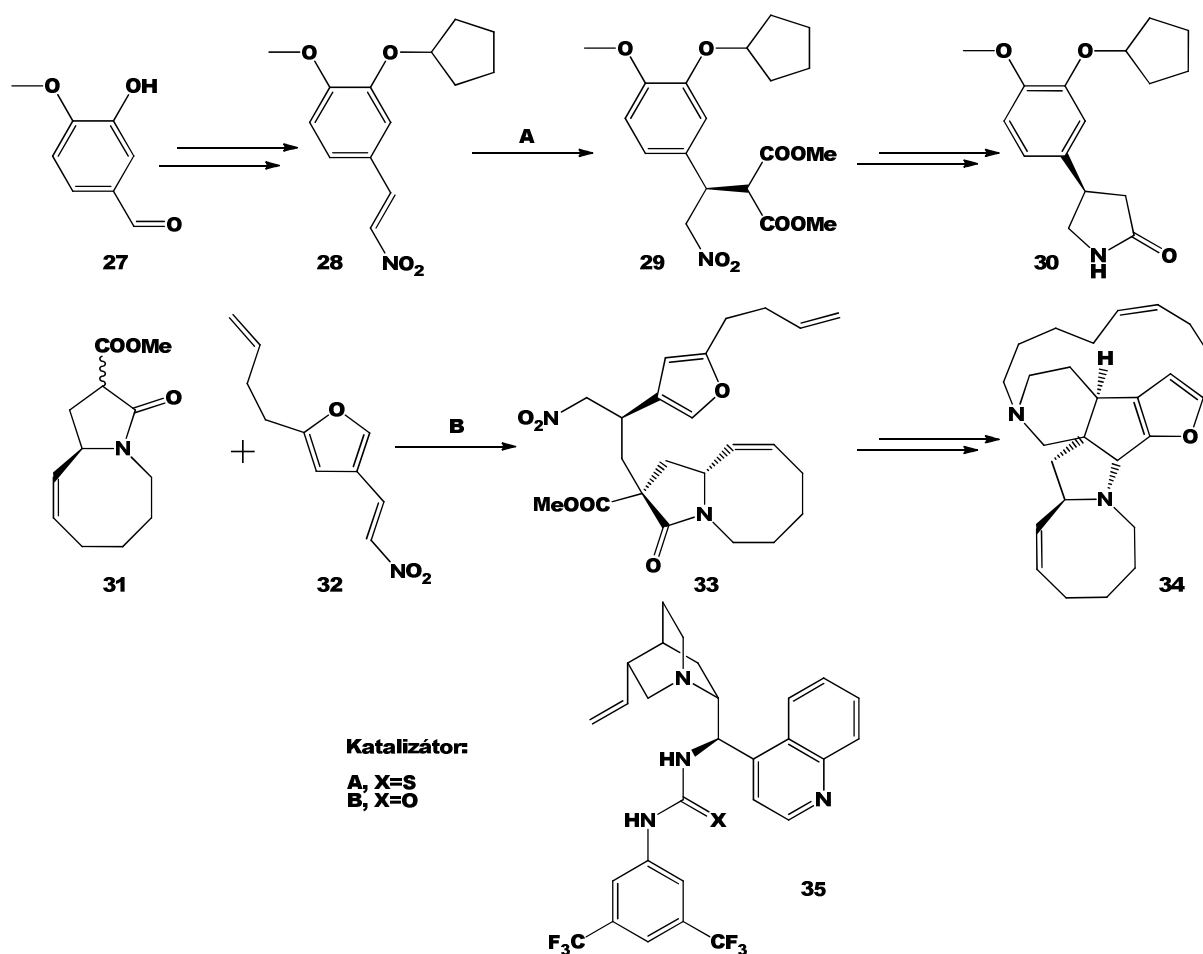
Curran és Kuo²⁴ olyan katalizátor-családot mutattak be, amiben a diaril-karbamid- vagy tiokarbamid központi részt hordozó molekulák sztereoszelektív gyökös allilezési reakciókban vettek részt. A robosztus, hangolható és egyszerűen előállítható katalizátorok lényege, hogy hidrogénkötések kialakításával²⁵ az elektrofil, Lewis-bázis komponenshez kapcsolódnak, és csökkentik annak LUMO energiaértékét²⁶. Mivel az aromás nitrocsoport a gyökös folyamatok inhibitora, a katalizátor kívánt savasságának eléréséhez ugyancsak elektronvonzó trifluormetil-csoportokat alkalmaztak. A meta- és para-helyzetben elektronszívó csoportot hordozó *N*-aril-tiokarbamidok szerkezete meglehetősen merev, ami kedvezően befolyásolja az entrópia faktort a molekuláris felismerés folyamata során²⁷. Schreiner²⁸ mutatott rá, hogy milyen jól hangolható a katalizátor aktivitása az *N*-aril-csoport szubsztituenseinek variálásával. Bebizonyították, hogy az *N*-3,5-bisz-trifluormetil-fenil-részletet hordozó szerkezetben a tiokarbamid körüli merevséget intramolekuláris

hidrogénkötés növeli: az aromás gyűrű 2-es hidrogénatomja megnövekedett savassága révén erősebb kölcsönhatást létesít a negatívan polarizált kénatommal²⁷. Emellett a gyűrűn elhelyezett elektronszívó csoportok a karbamid N–H savasságát is erősítik, ami a fentebb vázoltakból adódóan javítja a katalizátor aktivitását. Az első cinkona alapú tiokarbamid katalizátorok előállításáért és tulajdonságainak kiaknázásáért komoly verseny bontakozott ki négy (!) kutatócsoport között²⁹. Hamar egyértelművé vált, hogy enantioszelektív reakciók egész sorát katalizálják hatékonyan. A teljesség igénye nélkül felsorolok ezek közül néhányat: Michael-addíció³⁰, aza-Henry reakció³¹, Diels-Alder reakció³², Mannich reakció³³ és megszakított Feist-Bénary reakció³⁴, ezeket a 4. ábra mutatja be.



4. ábra: Enantio- (vagy diasztereo-) szelektív Michael-, aza-Henry-, Diels-Alder-, Mannich- és megszakított Feist-Bénary reakció

Mindemellett az amin-tiokarbamid típusú katalizátorokat mára már olyan totálszintézisekben alkalmazzák sikerrel, amilyen a rolipramé³⁵ (**30**) vagy a nakadomarin A-é³⁶ (**34**); ezeket mutatja be az 5. ábra. Ez a tény azt jelzi, hogy mostanra nemcsak a témában jártas kutató kezd bele ilyen reakciókba egy-egy egzotikus átalakítás publikálásáért, hanem a totálszintézissel foglalkozó vegyész is. Ő minden egyes próbareakciót annak alapján mérlegel a bevált reagensek, katalizátorok között, hogy a reakció sikertelen kimenetele esetében a többhónapos alapanyaggyártást kell előlről kezdenie – így csak a legbiztosabb reakciókat próbálhatja meg.



5. ábra: Rolipram és nakadomarin A totálszintézisének organokatalitikus lépése és annak katalizátora

Érdekes, hogy a katalizátorok ezen családját sokan, behatóan vizsgálták, mégis, legjobb tudomásom szerint, csak az aril-szubsztituensek szűk köre (fenil-³⁷, trifluormetil-fenil-³⁸, és a gyakran hivatkozott bisz-(trifluormetil)fenil-csoport) bizonyított igazán, ezeket alkalmazták előszeretettel (persze tisztában lehetünk azzal, hogy egy adott közleményben leírt

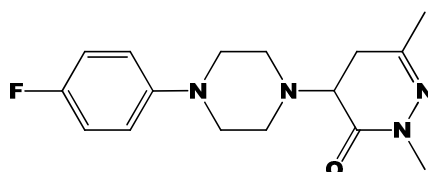
reakciók csupán egy részét jelentik az alapkutatás során felhalmozott tudásnak, ismeretanyagának). A karbamid alapú katalizátorok néhány esetben³⁹ a tiokarbamidoknál hatékonyabbak, mégis kisebb a jelentőségük, mert a karbamid kevésbé savas, ugyanakkor flexibilisebb karaktere csak speciális esetekben jelenthet előnyt. A cinkona alapú amin-tiokarbamid katalizátorok alkalmazásának terén Connon²² és Takemoto⁴⁰ jelentettek meg átfogó, összefoglaló közleményt.

Ahogy a 2000-es évek közepére az organokatalízis fentiekben tárgyalt területe fejlődött, igény, kiaknázható lehetőség mutatkozott a mechanisztikus vizsgálódásra, amit DFT-szinten már az akkor elérhető számítási kapacitás lehetővé tett. Hamza Andrea és társai⁴¹ nitrometán (**16**) addícióját modellezték 1,3-difenil-propenonra (**12**), amit cinkona organokatalizátor segített elő. Számításaik alapján az elektrofil komponens (difenil-propenon szénatomja) aktiválásáért a katalizátor kinuklidin nitrogénatomja által megkötött proton a felelős, ugyanis ez alakít ki hidrogénkötést a karbonilcsoport oxigénje felé. A nukleofil metilén-nitronát aniont a tiokarbamid-részlet ugyancsak hidrogénkötések (nitrocsoport oxigénatomjai „farkasszemet néznek” a tiokarbamid két N—H részletével) révén stabilizálja a reaktáns közelségében. A publikációjukban közöltek egy évvel később újabb eredmények egészítették ki, melyben az elvégzett számításokat általuk validált hatékonyabb módszerekkel (új DFT-funkcionálokkal, nagyobb bázisokkal és más, *ab initio* számításokkal) megismételték⁴².

2. III. Különböző piridazinonok alkalmazási lehetőségei a rákgyógyászat területén

Ebben a kutatási témában, az általam előállított vegyületek két fontos funkciócsoportja a ferrocenilcsoport és a piridazinonrészlet, ezért ezek biológiai hatását röviden át kell tekintsem az irodalmi részben. Ahogy a ferrocénvegyületek biológiai alkalmazhatóságáról már a 3. I. fejezetben szó esett, így itt a piridazinonok alkalmazási lehetőségeit mutatom be a rákgyógyászat területén, öt publikáció eredményeinek ismertetésével. Emellett meg kell jegyezni, hogy a területen fellelhető közlemények többsége szabadalom, ami a tématerület fontosságát, várható gyakorlati jelentőségét jelzi.

Rágcsálókban tumor sejtvonalakon (3LL és L1210) mutatott erős citotoxikus hatást (citotoxikus koncentráció $CC_{50} = 46$, ill. $39 \mu M$) a 4,5-dihidro-2,6-dimetil-piridazin-3(2H)-on (**36**) 4-es helyzetben N'-(4-fluorfenil)-piperazin-gyűrűvel szubsztituált származéka⁴³, ami azért érdekes, mert a szubsztituátlan alapváz nagyságrendekkel kevésbé citotoxikus az adott sejtvonalakon. A vegyület szerkezetét a 6. ábra mutatja.

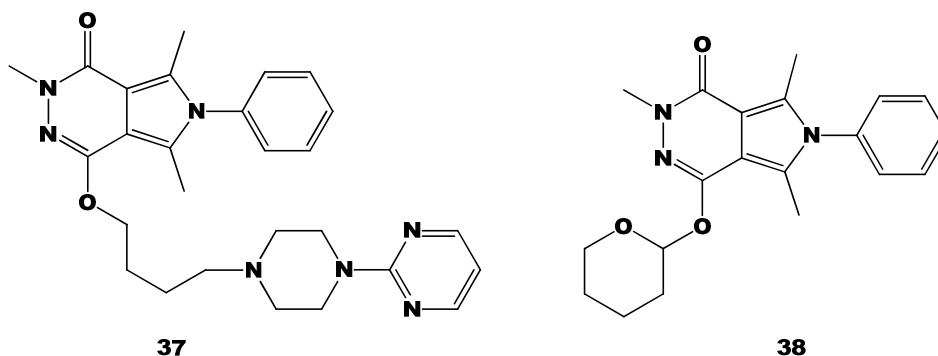


36

6. ábra: 4-(4-(4-fluorfenil)piperazin-1-il)-2,6-dimetil-4,5-dihidropiridazin-3(2H)-on

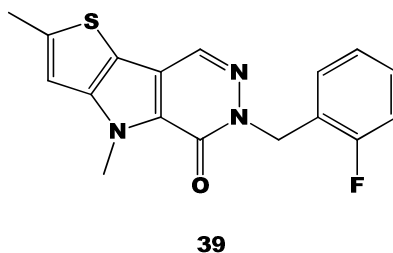
A pirrolo-piridazinonok a piridazingyűrűt pirrallal kondenzált formában tartalmazzák, és számos származékuk mutat erős antiproliferációs hatást; ezek közül a pirrolo[3,4-*d*]piridazinonokat vizsgálták behatóan⁴⁴. A szerkezet érdekessége, hogy a piridazindion *O*-alkilezése során melléktermékként keletkező *N*-alkil termék jóval gyengébb antitumor hatása mellett erős antimikobakteriális tulajdonsága van, ami a célvegyületről nem mondható el. A számos *N*-, és *O*-alkilezett termék a tüdő-, mell- és központi idegrendszer rákos sejtvonalain (sorrendben NCI-H460, MCF7 és SF-268) a sejtek növekedésére gátló hatást fejtett ki. Ezt a jelenséget specifikus mechanizmus-alapú mitózisgátlással magyarázták a szerzők. A két legaktívabb vegyületről jóval nagyobb sejtvonal-számú (60) tesztet végeztek. Ebből kiderült, hogy a rákos sejtek mindegyikére hatottak, ugyanakkor csak $10 \mu l/mol$ fölötti inhibíciót

sikerült megfigyelni. A két ismertetett közlemény legígéretesebb molekuláinak szerkezetét a 7. ábra mutatja be.



7. ábra: Két pirrolopiridazindion szerkezete

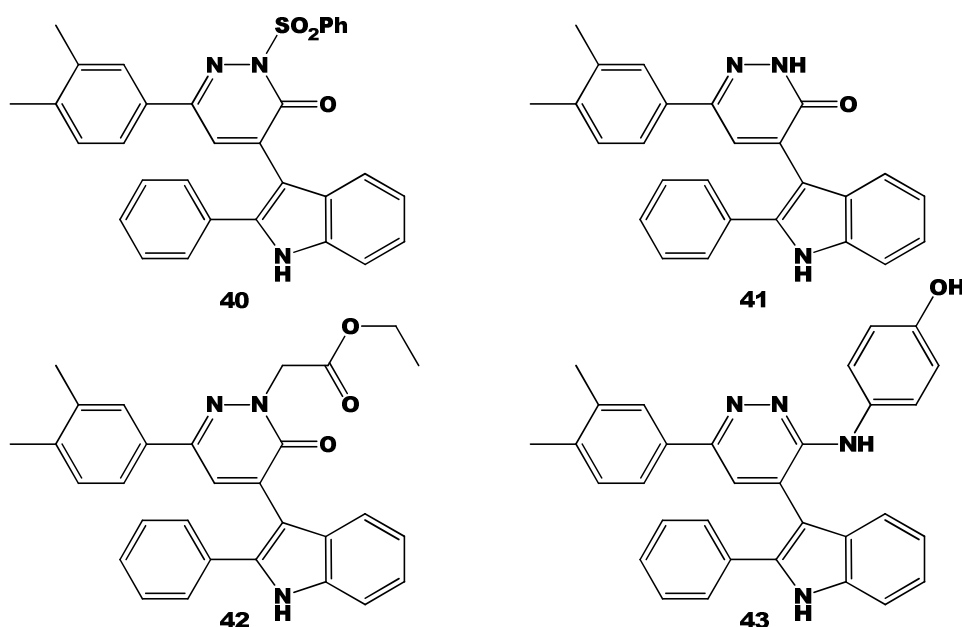
Rákos sejtvonalak egy régről ismert, de előremutató támadási stratégiája, ha figyelembe vesszük a normálistól eltérő metabolizmusukat. Erre épít a tieno-pirrolopiridazinonok alkalmazása⁴⁵: a piruvát-kináz (PK) enzim M2 izoenzim formában expresszálódik rosszindulatú sejtvonalakban, így „csupán” olyan molekulákat kell szintetizálni, amik erre az M2 formára hatnak, míg az M1, egészséges sejtekben expresszálódó formával csak jóval gyengébb kölcsönhatásba lépnek. A hivatkozott esetben nem az enzim kötőhelyéhez való kötődés volt a cél, hanem az enzim allosztérikus aktiválása, ami „helyre billenteti” a normálistól eltérő metabolitikus csomópont működését, aktivitását. Ezt a mechanizmust a szerzőgárda mintegy négy tucat piridazinon- és pirimidon típusú vegyülettel próbálta elérni. Egy példát, hatását tekintve PKM2 aktiváló vegyületet (**39**) mutat be a 8. ábra.



8. ábra: 6-(2-fluoro-benzil)-2,4-dimetil-4H-tieno[2',3':4,5]pirrolo[2,3-d]piridazin-5(6H)-on

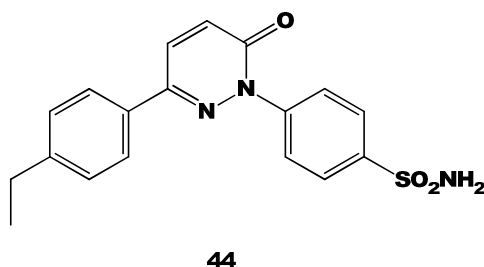
Különböző, 4-es helyzetben 3-indolil-csoportot hordozó piridazinonok rákellenes hatását MCF7 (mellrák), HEPG2 (májrák), HCT116 (vastagbélrák) sejtvonalakon vizsgálták egyiptomi szerzők⁴⁶. Céljuk az volt, hogy a bioaktív piridazinon- és indolváz előnyös tulajdonságait átörökötsék a célvegyületeikre. A figyelmes olvasó jó pár 10 µg/ml IC₅₀ értékű

molekulát talál a közleményben, amik 100 nmol/ml nagyságrendű hatásukkal mindenképpen figyelemreméltó eredményt jelentenek. A 9. ábra mutatja be négy legígéretesebb molekulájuk szerkezetét: a **40**-es mell-, a **41**-es máj-, míg a **42-43**-as páros vastagbélrák sejtvonalakon hatásos.



9. ábra: Aktív, indolil-szubsztituált piridazin-származékok

Indiai szerzők a National Cancer Institute-tal (USA) együttműködve végeztek kutatásokat piridazinonnal szubsztituált benzol-szulfonamid molekulákkal, s ennek eredményeképpen vezérmolekula szerkezetet javasolnak cikkükben leukémia kezelésére⁴⁷. Bár a pontos hatásmechanizmus nem ismert (a szerzők öt, teljesen különböző mechanizmust említene annak értelmezésére, hogy miként gátolják a szulfonamidok a rákos sejtek proliferációját), találtak szubmikromólos GI₅₀ értékű (sejtnövekedést 50 %-ban gátló) vegyületet, kedvező akut toxicitási értékkel. Ezen molekulájukat (**44**) a 10. ábra mutatja be.



10. ábra: 4-(3-(4-etil-fenil)-6-oxopiridazin-1(6H)-il)benzol-szulfonamid

3. Saját munka és eredmények

3. a. Az alkalmazott eljárások és szerkezet-meghatározó módszerek általános ismertetése

Kiindulási vegyületeim döntő többségét, a szükséges reagenseket és oldószereket piaci forgalmazóktól szereztem be (Sigma-Aldrich, Fluka, Molar Chemicals, VWR...), és használtam fel további tisztítás nélkül. Ettől két esetben tértem el: egyrészt az oldószereket gyakran kellett abszolútizálnom a preparatív munka elvégzése előtt (ez leggyakrabban argon atmoszféra alatt, lítium-alumínium-hidriden történő forralást és desztillációt jelent), másrészt egy-két prekursor ferrocénvegyületet doktorandusz társaim vagy szaklaboros hallgatók szintetizáltak – munkájukat ezúton is hálásan köszönöm! Ahol ilyen vegyülettel dolgoztam, azt kiemelem. A nyerstelemek tisztítását legtöbbször preparatív méretű oszlopkromatográfiával végeztem. Ehhez szilikagél- (Merck, 230–400 mesh, 60 Å) és semleges alumina töltet (Brockmann I grade, ~ 150 mesh, 58 Å) állt rendelkezésemre. A reakciók előrehaladását szilikagél állófázisú vékonyréteg-kromatográfiával követtem. Ennek eredményei alapján hoztam döntést az alkalmazott reakcióidőről vagy esetleges hőmérsékletemeléssel és további reagens hozzáadásáról. Preparatív munkám során kevés esetben csaptam ki a terméket az alkalmazott oldószerből (víz segítségével), így vákuumbepárlással kellett megszabadulnom a szerves oldószeranyagoktól (^1H -NMR alapján egyértelmű az ilyen szennyeződés). Ennek első lépése a vízlégszivattyús rotálás volt, amit membrán-szivattyús motor-vákuum követett (stabilan 8 mbar alatt tartható vákuumnál tekintettem a terméket oldószermentesnek, ha az oldószer víznél kisebb forráspontú volt). Indokolt esetben (reagens víz, aminok, piridin...) ezt még vákuum-exszikkátor használata követte, legtöbbször P_2O_5 töltettel.

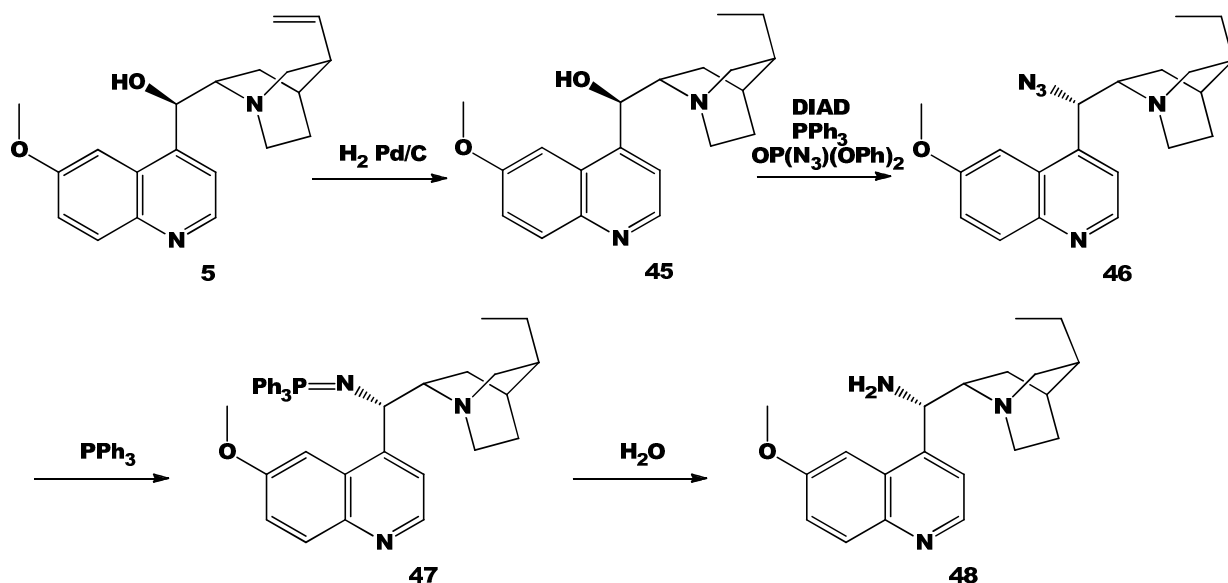
A tiszta, szilárd termékek olvadáspontját Electrothermal 9100 készülékkel határoztam meg levegőre nyitott kapillárisban. A vegyületek IR spektrumának felvételéhez Bruker IFS-55 FT, IFS-28 és Perkin-Elmer 1700 készülékeket használtam annak függvényében, hogy éppen melyik volt szabad. A méréseket KBr pasztillás vagy ATR-fejjel végeztem, a spektrumok felvételéhez és feldolgozásához Opus 3.0 verziójú szoftvert használtam. Az NMR spektroszkópiás vizsgálatokhoz mind témavezetőm, mind én Bruker DRX-500 készüléket alkalmaztunk, többségében CDCl_3 vagy DMSO-d_6 oldószerben (ezek a vegyületek

szolgáltatták a lock jelet is), hagyományos 5 mm-es csövekben, általában szobahőmérsékleten. A DEPT méréseket 135 °-os pulzussal hajtottuk végre, a 2D-COSY, HMBC és HMQC mérések a gyártó által beprogramozott pulzusokkal történtek, ezeket minden esetben témavezetőm végezte. A pontos tömegméréseket Drahos László hajtotta végre Q-TOF Premier (Waters Corporation) készüléken pozitív electrospray üzemmódban. Az egyes vegyületek optikai forgatóképességének meghatározásához Zeiss Polimat A polarimétert használtam, az alkalmazott oldószert a meghatározott forgatóképesség után tüntetem fel.

A kvantumkémiai számítások témánként eltérnek abban, hogy csupán egy konformer geometriájának optimálását végeztem el (IR, NMR mérések támogatásához), vagy összetettebb, átmeneti állapot keresés és validálás történt (mechanizmusok tanulmányozása céljából). Így, a jobb áttekinthetőség érdekében az alkalmazott módszert témánként mutatom be. Minden esetben Gaussian 03 és Gaussian 09 programcsomag verzióit (előbbinél B.05-öt, D.01-et és E.01-et, utóbbinál A.01-et) alkalmaztam^{48,49}.

3. I. 1. Módosított kininek és C₂-szimmetriájú bisz-kininszármazékok szintézise

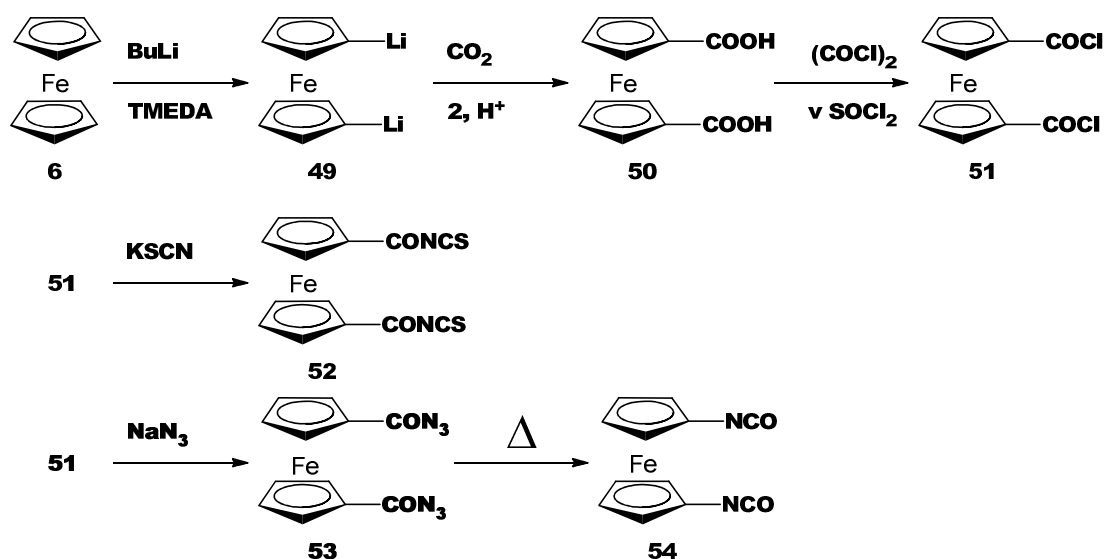
A szintetikus munka első célja a [(*S*)-((2*S*, 4*R*, 8*R*)-8-etil-kinuklidin-2-il)](6-metoxi-kinolin-4-il)metánamin (**48**, továbbiakban kiindulási amin) előállítása volt. Ehhez az első lépés a kinin (**5**) vinilcsoportjának hidrogénezése volt palládium-csontszénnel metanol-etilacetát (1:10) oldószerkelegyen, atmoszférikus hidrogénnyomáson. A hidroxilcsoport cseréje aminra Mitsunobu- és az azt követő Staudinger reakció segítségével érhető el, ezt a reakciót Brunner és munkatársa⁵⁰ dolgozta ki, s Vakulya Benedek módosította²⁹. A termék feldolgozásában a leírtaktól Varga Szilárd tanácsára eltértem, a kapott terméket oszloposítás helyett éterből sóként monohidroklorid formában leválasztottam. A továbbiakban mindig ebből a sóból, bázissal felszabadítva frissen nyert aminnal mentem tovább. A szintézis lépéseit a 11. ábra foglalja össze.



11. ábra: [(*S*)-((2*S*, 4*R*, 8*R*)-8-etil-kinuklidin-2-il)](6-metoxikinolin-4-il)metánamin előállítása

Az acil-tiokarbamidok előállításához az 1,1'-bisz(karbonil-izotiocianáto)ferrocént (**52**) és a karbonil-izotiocianáto-benzolt (**54**) a megfelelő savkloridokból (**51**) állítottam elő⁵¹. Az ehhez szükséges benzoil-klorid szerves alapvegyszer, de az 1,1'-bisz(klór-karbonil)-ferrocént nekem kellett előállítanom. A kiindulási alapanyag ferrocént először butil-lítiummal reagáltattam Schlenk-technikát alkalmazva⁵², majd a kapott 1,1'-bisz-lítio-ferrocént (**49**) széndioxiddal kezeltem, s a lítiumsóból az 1,1'-ferrocén-dikarbonsavat (**50**) sósavval szabadítottam fel. A kapott karbonsavból mind oxalil-kloriddal⁵³-, mind tionil-kloriddal⁵⁴ elő

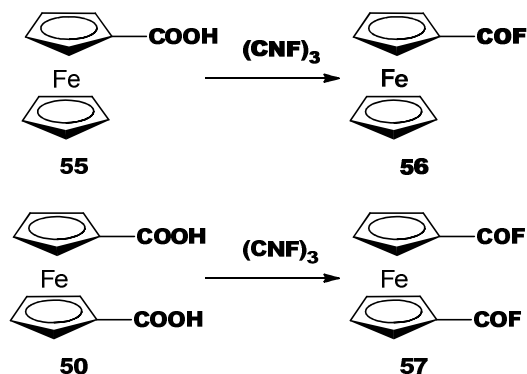
tudtam állítani az 1,1'-bisz(klór-karbonil)-ferrocént (**51**), amiből több irányban ágazott el a reakció attól függően, hogy izocianátot akartam szintetizálni, vagy a karbonil-izotiocianátot, mint azt a 12. ábra bemutatja.



12. ábra: Ferrocén-dikarbonsav szintézise, savkloridból kiinduló prekursorok szintézise

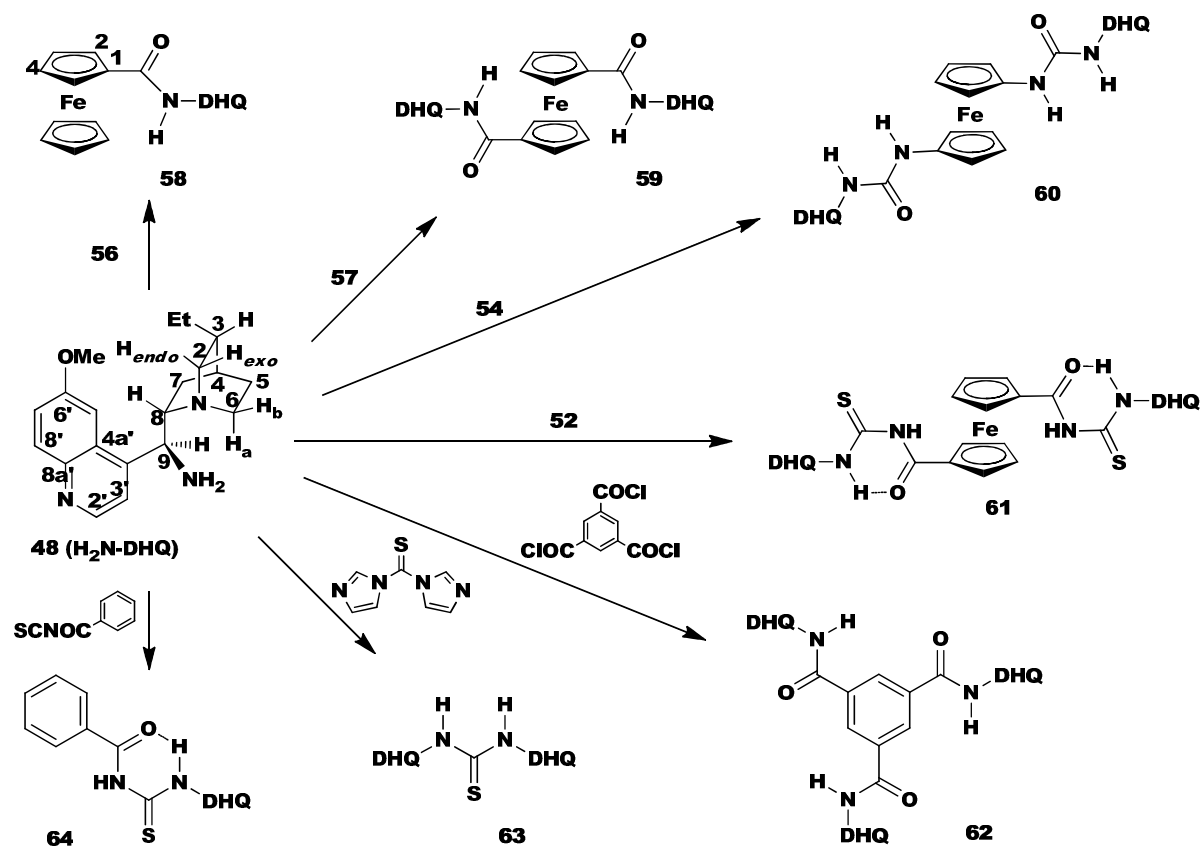
A klóratomokat pszeudohalogenidekre cseréltem, így állítottam elő a 1,1'-bisz(karbonil-izotiocianáto)ferrocént (**52**) (ezt izolálás nélkül reagáltattam tovább az alkalmazott aminnal) és 1,1'-bisz(karbonil-azido)ferrocént (**53**). Ez utóbbiból Curtius-lebontással⁵⁵, toluolos forralással állítottam elő a ferrocén-1,1'-diizocianátot (**54**).

A ferrocenoil-fluoridot (**56**) Galow leírása alapján⁵⁶ állítottam elő ferrocén-karbonsavból (**55**) és cianur-fluoridból. Az 1,1'-bisz(fluor-karbonil)-ferrocént (**57**) nem kellett előállítanom, az előzővel azonos módon, Kovács Zoltán doktorandusz társam korábban szintetizálta és adott belőle, amit ezúton is köszönök. A szintézissémát a 13. ábra mutatja be.



13. ábra: Ferrocén-karbonsav-fluoridok előállítása cianur-fluoriddal

A felsorolt irodalmi reprodukciós eljárások után ismertetem a célvegyületeim előállítását, amit a 14. ábra foglal össze.

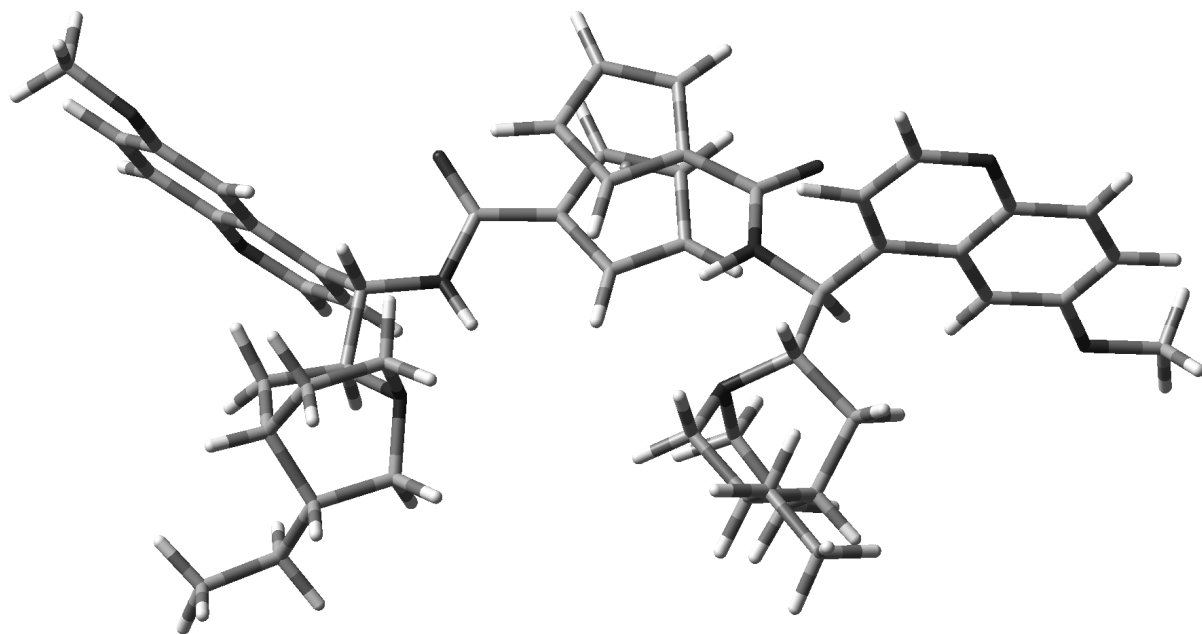


14. ábra: A célvegyületek szintézise. NMR hozzárendelések a feltüntetett atomszámozást alkalmaztam.

A mono- (58), bisz- (59) és trisz- (62) amid előállítása hagyományos acilezés volt diklórmetánban, dimetilamino-piridin aciltranszfer-katalizátor és bázis jelenlétében. A karbamid (60) és az acil-tiokarbamidok (61, 64) előállítása egyszerű addíció, előbbi THF-ben, utóbbi kettő acetónban ment végbe. A tiokarbamid (63) előállítása tiokarbonil-diimidazol (tiofoszgén ekvivalens) segítségével történt THF-ben. A feldolgozás legtöbb esetben többszörös oszlopkromatográfiás elválasztást és oldószeres eldörzsölést vagy átkristályosítást jelentett. Három esetben az igen alacsony (1-2 %) termelés feltehetően nem a gyenge konverzióra, hanem a vegyületek bomlására, és a sok bázikus nitrogénatom okozta nehéz elválaszthatóságára vezethető vissza.

3. I. 2. Elméleti modellezés

Röntgendiffrakcióra alkalmas egykristály hiányában DFT-számításokat végeztem a molekulák egy-egy kedvezményezett konformációjának meghatározásáért és az NMR jel-hozzárendelés alátámasztásáért. Ezeket a szerkezeteket bár vákuumban optimáltam, alkalmasak lehetnek arra, hogy kvalitatív szinten tájékozódhassunk a molekulák receptorokban elérhető részeiről. A szerkezetoptimálást DFT-módszerrel végeztem. Az alkalmazott funkcionál B3LYP volt a tisztán szerves molekulákra, míg B3PW91 a ferrocént is tartalmazókra⁵⁷. A nehézatomok nagy száma miatt egységesen Lanl2DZ bázist alkalmaztam. Ahol csak lehetett, kihasználtam a molekulák szimmetrikus voltát (C_2 - vagy C_3 -forgástengely), azt szerkezeti megkötésként alkalmaztam a számítások gyorsítása érdekében. Minden számítás közös jellemzője, hogy a kinuklidingyűrű nitrogénatomja 2,1-2,3 Å távolságra van a cinkona vázhoz közvetlenül kapcsolódó N–H részlettől, s így a szerkezetet merevítő ötatomos gyűrűt alakít ki vele. A ^1H -NMR mérésekkel összhangban (kiemelkedő eltolódások) ugyanez a hidrogénatom erősebb hidrogénkötést, hatos gyűrűt alakít ki az acil-tiokarbamid funkciós csoporton belül. A bemutatott négy új ferrocénvegyületben a ciklopentadienil-gyűrűk fedő állásúak, s szubsztituenseik (amid, karbamid, acil-tiokarbamid) azonos síkban vannak velük az elektron-delokalizáció miatt. A sejtvonal teszteken legsikeresebb biszamid-származék (**59**) szerkezetét a 15. ábra mutatja.



15. ábra: A biszamid (**59**) számított, szimmetrikus szerkezete

3. I. 3. Szerkezetfelderítés

Az NMR és IR mérések a várt szerkezeteket megerősítették, így a jel-hozzárendelésekhez csupán néhány megjegyzést szükséges hozzáfűzni. A szimmetrikus molekulák az ^1H - és ^{13}C -NMR spektrumai csak egy kémiai környezetben lévő cinkona molekularészlettől származó jeleket tartalmaznak igazolva azt a közelítést, miszerint ezen szimmetrikus molekuláknál a geometria-optimalás végezhető szimmetria-megkötések figyelembevételével. Az ^1H -NMR spektrumban a **61** és **64** molekulák esetében a C-9-es atomhoz kapcsolódó N–H részletben a hidrogénatom a kelátgyűrűben foglal helyet. A cinkona egységek relatív *endo* az amid N–H és a H-6 $_{\alpha}$ protonok között mért NOE igazolja. Ezt a térbeli közelséget támasztja alá a H-6 $_{\alpha}$ proton saját geminális partneréhez viszonyított jóval magasabb eltolódása (köztük ~0,6 ppm a különbség). A C-8 centrum relatív konfigurációját is NOE igazolja, mely a H-2 $_{endo}$ - és H-8 atomok között mutatott kölcsönhatást. A C-3 atom relatív konfigurációjáról pedig az etilcsoport metilén-protonjai és a H-7 $_{\beta}$ - valamint H-8 atomok között mért NOE kölcsönhatások adnak felvilágosítást.

3. I. 4. Biológiai vizsgálatok: vegyületeim *in vitro* aktivitásai emberi rákos sejtvonalakon

A biológiai *in vitro* vizsgálatokat Orbán Erika végezte Bösze Szilvia vezetésével *in vitro* négy rákos sejtvonalon: HL-60 leukémia, HepG2 májrák, MCF-7 emlőrák és SH-SY5Y neuroblasztoma sejteken 10^{-4} -tól 10^2 μM koncentráció tartományban, és rendelt ezekhez IC_{50} értékeket a mérések alapján. A sejtek életképességét MTT-assay segítségével határozták meg.

A prekursor aminnak (**48**) a tesztelt sejtvonalakon nincs antitumor hatása. A ferrocénvegyületek köréből a diamid (**59**) volt a legaktívabb minden sejtvonalon (a citotoxicitás és citosztatikus hatás IC_{50} értéke 0,72-től 1,70 μM -ig és 0,40-től 1,00 μM -ig terjedő tartományba esett). Ami a legérdekesebbnek bizonyult, hogy a monoamidhoz képest (**58**) az eggyel több cinkona egység drámaian javította az antitumor hatást. Ennek okát csupán találgatni tudjuk, de a Cp-gyűrűk szabad elfordulásából adódó nagy konformációs szabadság is hozzájárulhatott a jó eredményekhez.

Hasonlóan nagy különbség mutatkozott a bisz-karbamid (**60**) és a bisz-(acil-tiokarbamid) (**61**) között. Míg az előbbire határozott aktivitást mértek minden sejtvonalon, az utóbbinak szelektíven csak a HL-60 leukémia sejteken volt citotoxikus és citosztatikus hatása. Ezt a csökkent aktivitást többek között az intramolekuláris hidrogénkötésekkel lehet többek között magyarázni (az acil-tiokarbamid részen belül és talán a két funkciós csoport között is).

A ferrocént nem tartalmazó C₂-szimmetriájú vegyületnek (**63**) ugyancsak citotoxikus és citosztatikus hatása van a HL-60 és SH-SY5Y sejtkultúrákon (citotoxicitás IC₅₀: 1,80 és 0,84 µM, citosztatikus aktivitás 10,20 és 4,20 µM). A benzoil-tiokarbamid (**64**) és a C₃-szimmetriájú trisamid (**62**) ugyancsak citotoxikusnak bizonyult (IC₅₀ = 17,60-tól 32,20 µM-ig, illetve 2,30-tól 8,90 µM-ig), de nem volt *in vitro* citotoxicitás megfigyelhető az MCF-7 sejtvonalon. Ugyanezen sejtvonalakon jelentős citosztatikus hatásuk volt egyéjszakás inkubációs idő alatt. A méréseket összefoglalva az 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat: Vegyületeim *in vitro* citotoxicitás- és citosztatikus aktivitás értékei emberi rákos sejtvonalon

Vegyület	Citotoxicitás (sejtvonal, IC ₅₀ / µM)				Citosztatikus hatás (sejtvonal, IC ₅₀ / µM)			
	HepG2	SH-SY5Y	HL-60	MCF-7	HepG2	SH-SY5Y	HL-60	MCF-7
48	>100	>100	>100	> 100	>100	>100	>100	> 100
64	17,60±0,25	21,20±3,24	32,20±4,67	>100	65,60±3,40	82,90±6,78	>100	82,90±7,98
63	3,34±1,02	0,84±0,02	1,80±0,56	5,34±1,78	4,60±0,02	4,20±2,30	10,20±1,65	3,89±1,18
58	33,10±3,04	29,80±4,24	37,70±3,67	25,32±4,60	65,00±6,70	80,70±5,78	41,90±1,45	56,00±4,56
60	4,24±1,12	0,82±0,54	0,86±0,02	21,70±3,23	3,40±0,12	1,30±0,54	0,94±0,02	5,10±0,67
61	>100	>100	6,70±0,02	>100	>100	>100	6,50±3,56	21,80±3,18
59	0,72±0,01	0,78±0,02	1,70±0,05	0,75±0,02	0,40±0,17	0,99±0,10	0,76±0,01	1,00±0,34
62	8,90±0,23	1,50±0,02	2,30±0,05	>100	19,60±2,12	17,20±3,45	4,50±0,01	2,36±0,01

3. I. 5. Kísérleti rész

Az *in vitro* assay vizsgálatokhoz a 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium-bromidot (MTT), az RPMI-1640-t és DMEM közeget, FCS-t és nem esszenciális aminosavakat a Sigma-Aldrich forgalmazza. A HL-60 és a HepG2 sejteket RPMI-1640-ben 10 % FCS, 2 mM L-glutamin és 160 µg/mL gentamicin mellett tenyésztették. Az MCF-7 és SH-SY5Y vonalakat DMEM-ben, 10 % FCS, 2 mM L-glutamin, 160 µg/mL gentamicin, 1 mM piruvát és 1 % nem esszenciális aminosav közegben tenyésztették. Mindkét eljárás 37 °C-on, párás, 5 %-CO₂-t tartalmazó levegőn folyt.

A sejteket összefüggő telepekig növesztették és helyezték 96 tányéros lemezekre, kezdeti sejtszámuk 5-7500 volt egy tányéron. 37 °C-on, 24 órás inkubáció után kezelték őket 0,2 mL, 1 %-os DMSO-s, a vegyületeket 10⁻⁴-től 10² µM koncentráció tartományban tartalmazó oldatokkal egy éjszakán át. A kontroll sejteket szérumentes közeggel (RPMI-1640 vagy DMEM), vagy 1 % DMSO-t tartalmazó oldattal 37 °C-on, egy éjszakán át. Az inkubációt kétszeres, szérumentes közeggel történő mosás követte. Az *in vitro* citosztatikus hatás meghatározásához a sejteket további 72 órán át szérumos közegben szaporították. Az *in vitro* citotoxicitás méréséhez MTT assay-t végeztek rögtön az egyéjszakás inkubáció után: a sejtek életképességét MTT módszerrel mérték meg^{58,59}. Az MTT oldatát [45 µL, 2 mg/mL] minden egyes tányérhoz hozzáadták, a reagens redukálódott a sejt elektrontranszport rendszerei által^{58,59,60}, és az ibolya formázán kristályos csapadékként kicsapódott a sejten belül⁶¹. Ennek mennyiségének spektrofotometriás megméréséből lehet következtetni a mitokondriumok, és így az élő sejtek számára⁶². 4 órás inkubációs idő után 5 percig 900 g-s centrifuga következett, a felülúszót eltávolították. A kapott formázán kristályokat DMSO-ban [50 µL] feloldották, s optikai sűrűséget (OD) mértek a mintákon 540- és 620 nm-en ELISA Reader eszközzel (iEMS Reader, Labsystems, Finnország). Az OD₅₄₀-OD₆₂₀ különbségből és a citosztatikus hatást vagy citotoxicitás %-át az $(1 - OD_{\text{kezelt}} / OD_{\text{kontroll}}) \cdot 100 \%$ képletből nyerték. Minden két független kísérletre négy-nyolc párhuzamos mérés jutott. Az 50 %-os inhibíciós koncentrációt a kapott dózis-hatásgörbékből számították, MicrocalTM Origin 7.5 szoftverrel. A citosztatikus hatást vagy citotoxicitást a koncentráció függvényében ábrázolva a mérési pontokhoz szigmoidális görbét illesztettek, annak maximális magasságának felét rendelték az IC₅₀-hez. Az alkalmazott SH-SY5Y sejt vonal Datki Zsolttól származott⁶³.

3. I. 5. 1. 1-Benzoil-3-[(S)-((2S, 4R, 8R)-8-etilkinuklidin-2-il)](6-metoxikinolin-4-il)metil}tiokarbamid (64).

A kiindulási amint⁵⁰ (**48**) [3,0 g, 9,2 mmol] és a benzoil-izotiocianátot [1,5 g, 9,2 mmol] abszolútizált THF-ben (100 mL) oldottam fel, és kevertettem szobahőmérsékleten egy éjszakán át. A feldolgozás első lépése vákuumbepárlás volt, majd háromszor oszlopkromatografáltam szilikagélen DCM-MeOH (80:1) eluenssel a megfelelő tisztaság elérése érdekében. Üvegesen áttetsző anyagot kaptam (484 mg, 10 %). op. 92-94 °C. IR (KBr, cm⁻¹): 2928, 2861, 1667, 1621, 1507, 712; HRMS-ből kapott pontos tömeg C₂₈H₃₃N₄O₂S [MH]⁺ 489,2324; mért 489,2323. [α]_D²⁶: -217,3° (EtOH *c* = 0,31 g/100 mL). ¹H-NMR (CDCl₃): 11,50 (br s, 1H, NH keláton belül); 11,20 (br s, 1H, NH nem része a kelátnak); 8,64 (d, 1H, *J* = 4,5 Hz, H-2'); 7,88 (d, 1H, *J* = 9,2 Hz, H-8'); 7,84 (d, 2H, *J* = 7,3 Hz, H-2,6, Ph); 7,70 (br s, 1H, H-5'); 7,54 (t, 1H, *J* = 7,3 Hz, H-4, Ph); 7,51 (d, 1H, *J* = 4,5 Hz, H-3'); 7,35 (dd, 1H, *J* = 9,2 Hz és 2,5 Hz, H-7'); 5,78 (br ~d, *J* ~ 8 Hz 1H, H-9); 3,86 (s, 3H, OCH₃); 3,28 (br ~t, *J* ~ 8 Hz, 1H, H-8); 3,10–3,05 (átfedő m, 2H, H-2_{exo} és H-6_α); 2,58 (ddd, *J* = 12,5 Hz, 11,2 Hz és 4,5 Hz, 1H, H-6_β); 2,36 (dd, *J* = 13,8 Hz és 4,9 Hz, 1H, H-2_{endo}); 1,54 (m, 1H, H-5_β); 1,47 (m, 1H, H-4); 1,37 (m, 1H, H-5_α); 1,28 (m, 1H, H-3); 1,15–1,05 (m, 3H, H-7_β, CH₃-CH₂); 0,79 (dd, *J* = 13,5 Hz és 8,2 Hz, 1H, H-7_α); 0,67 (t, 3H, *J* = 7,2 Hz, CH₃); ¹³C-NMR (CDCl₃): 180,4 (C=S); 169,0 (C=O); 158,0 (C-6'); 148,6 (C-2'); 145,5 (C-4'); 145,0 (C-8a'); 133,9 (C-4, Ph); 133,0 (C-1, Ph); 132,3 (C-8'); 129,5 (C-2,6, Ph); 129,3 (C-3,5, Ph); 128,7 (C-4a'); 122,0 (két összeolvadó vonal, C-3', C-7'); 103,5 (C-5'); 60,0 (C-8); 57,7 (C-2); 56,4 (OCH₃); 55,7 (C-9); 41,9 (C-6); 37,6 (C-3); 29,0 (C-5); 27,7 (C-4); 26,1 (CH₃-CH₂); 25,7 (C-7); 12,8 (CH₃-CH₂).

3. I. 5. 2. 1,3-Bisz-[(S)-((2S, 4R, 8R)-8-etilkinuklidin-2-il)](6-metoxikinolin-4-il)metil}tiokarbamid (63).

Az amint (**48**) (7,6 g, 23 mmol) tiokarbonil-diimidazollal (TCDI) (2,08 g, 12 mmol) kevertettem absz. THF-ben (150 mL) argon atmoszféra alatt. A reakció előrehaladását a TCDI lassú beoldódása mutatta. A kapott reakcióelegyet vákuumbepároltam, s szilikagélen oszlopkromatografáltam DCM-MeOH (15:1) eluenssel. A kapott, még olajos anyagot víz-
etanol elegyből átkristályosítottam, majd forró vízzel kioldottam belőle a maradék szennyeződést. Fehér por formájában kaptam meg a kívánt terméket (171 mg, 2,1 %). op. 137-138 °C. IR (KBr, cm⁻¹): 2924, 2859, 1622, 1508, 1228, 827; HRMS-ből kapott pontos tömeg C₄₁H₅₃N₆O₂S [MH]⁺ 693,3951; mért 693,3959. [α]_D²⁶: -141,8° (EtOH *c* = 0,21 g/100 mL). ¹H-NMR (DMSO-d₆): 8,58 (d, 1H, *J* = 4,5 Hz, H-2'); 7,94 (br s, 1H, NH); 7,82 (d, 1H, *J* = 9,2 Hz, H-8'); 7,70 (br s, 1H, H-5'); 7,29 (dd, 1H, *J* = 9,2 Hz és 2,5 Hz, H-7'); 7,25 (d, 1H, *J* = 4,5 Hz, H-3'); 5,12 (br d, *J* = 10,0 Hz, 1H, H-9); 3,81 (s, 3H, OCH₃); 3,00 (dd, *J* = 12,9 Hz

és 10,2 Hz, 1H, H-2_{exo}); 2,95 (br t, $J = 10,0$ Hz, 1H, H-8); 2,85 (br ~t, $J \sim 12$ Hz, 1H, H-6_α); 2,35 (br ~t, $J \sim 12$ Hz, 1H, H-6_β); 2,23 (br d, $J = 12,9$ Hz, 1H, H-2_{endo}); 1,38 (m, 2H, H-4, H-5_β); 1,28 (m, 1H, H-3); 1,24 (m, 1H, H-5_α); 1,10–1,05 (m, 2H, CH₃-CH₂); 0,99 (br dd, $J = 13,3$ Hz és 10,3 Hz, 1H, H-7_β); 0,69 (br d, $J = 13,5$ Hz, 1H, H-7_α); 0,65 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, CH₃); ¹³C-NMR (DMSO-d₆): 183,0 (C=S); 157,9 (C-6'); 148,3 (C-2'); 147,0 (C-4'); 145,0 (C-8a'); 132,0 (C-8'); 128,9 (C-4a'); 121,9 (C-7'); 121,4 (C-3'); 104,1 (C-5'); 60,5 (C-8); 57,8 (C-2); 57,0 (C-9); 56,5 (OCH₃); 41,6 (C-6); 37,7 (C-3); 29,0 (C-5); 27,6 (C-4); 26,2 (CH₃-CH₂); 25,9 (C-7); 12,6 (CH₃-CH₂).

3. 1. 5. 3. *N*-{[(*S*)-[(*2S*, *4R*, *8R*)-8-etilkinuklidin-2-il](6-metoxikinolin-4-il)metil]}ferrocén-karboxamid (**58**).

Diklórmetánban (10 mL) feloldottam az ament (**48**) [0,70 g, 2,2 mmol], a ferrocenoil-fluoridot (**56**) [0,50 g, 2,2 mmol] (Galow⁵⁶ leírása alapján állítottam elő) és a dimetilamino-piridint (DMAP) [0,26 g, 2,2 mmol]. A kapott oldatot szobahőmérsékleten argon atmoszféra alatt 45 percig kevertettem, majd vákuumbepároltam. Az így nyert nyersterméket oszlopkromatográfiásan tisztítottam [eluens: DCM-MeOH (30:1)], ezt dietil-éterrel történő eldörzsölés követte (100 mg-onként ~25 mL oldószert alkalmazva). Az így kapott termék világossárga por (592 mg, 51 %). op. 184–186 °C. IR (KBr, cm⁻¹): 3313, 2931, 2862, 1635, 1530, 1243, 874; HRMS-ből kapott pontos tömeg C₃₁H₃₆N₃O₂⁵⁶Fe [MH]⁺ 538,2157; mért 538,2162. [α]_D²⁶: -46,4° (EtOH $c = 0,23$ g/100 mL). ¹H-NMR (DMSO-d₆): 8,74 (d, 1H, $J = 4,5$ Hz, H-2'); 7,93 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz, H-8'); 7,90 (br s, 1H, NH); 7,88 (d, $J = 7,25$ Hz, 1H, H-5'); 7,60 (d, $J = 4,5$ Hz, H-3'); 7,40 (d, 1H, $J = 4,5$ Hz, H-3'); 7,38 (dd, 1H, $J = 9,2$ Hz és 2,5 Hz, H-7'); 5,77 (br ~d, $J \sim 9$ Hz, 1H, H-9); 4,77 és 4,76 (2 × br s, 2 × 1H, H-2,5, η⁵-C₅H₄); 4,27 (br s, 2H, H-3,4, η⁵-C₅H₄); 4,03 (s, 5H, η⁵-C₅H₅); 3,95 (s, 3H, OCH₃); 3,45 (br qa, $J = 8,6$ Hz, 1H, H-8); 3,23 (br ~t, $J \sim 12$ Hz, 1H, részlegesen átfed HDO oldószerszennyező jelével, H-6_α); 3,12 (dd, $J = 13,2$ Hz és 9,5 Hz, 1H, H-2_{exo}); 2,75 (ddd, $J = 12,5$ Hz, 11,4 Hz és 4,5 Hz, 1H, H-6_β); 2,59 (ddd, $J = 12,5$ Hz, 11,2 Hz, 4,5 Hz, 1H, H-5_β); 2,44 (br d, $J = 13,2$ Hz, 1H, H-2_{endo}); 1,55 (br ~s, 1H, H-4); 1,53–1,48 (átfedő m, 2H, H-5_β, H-7_β); 1,43 (m, 1H, H-5_α); 1,35 (m, 1H, H-3); 1,31 (m, 1H, CH₃-CH_AH_B); 1,23 (m, 1H, CH₃-CH_AH_B); 0,82 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, CH₃); 0,68 (dd, $J = 13,5$ Hz és 8,1 Hz, 1H, H-7_α); ¹³C-NMR (DMSO-d₆): 169,2 (C=O); 158,1 (C-6'); 148,5 (C-2'); 146,2 (C-4'); 145,0 (C-8a'); 132,1 (C-8'); 129,3 (C-4a'); 122,0 (C-7'); 120,9 (C-3'); 103,9 (C-5'); 77,0 (C-1, η⁵-C₅H₄); 70,8 (két összeolvadó jel, C-3,4, η⁵-C₅H₄); 70,1 (η⁵-C₅H₅); 69,2 és 69,0 (C-2,5, η⁵-C₅H₄); 58,5 (C-8); 58,1 (C-2); 56,4 (OCH₃); 50,0 (C-9); 41,9 (C-6); 37,8 (C-3); 29,1 (C-5); 27,9 (CH₃-CH₂); 27,0 (C-7); 25,5 (C-4); 12,9 (CH₃-CH₂).

3. I. 5. 4. 1,1'-(Ferrocén-1,1'-diil)-bisz-{3-[(S)-((2S, 4R, 8R)-8-etilkinuklidin-2-il)](6-metoxikinolin-4-il)metil}}karbamid (60).

Az amint (48) [7,6 g, 23 mmol] és a ferrocén-1,1'-diizocianátot (54) [2,6 g, 9,7 mmol]⁵⁵ absz. THF-ben, szobahőmérsékleten, argon atmoszféra alatt egy éjszakán át kevertettem. A vákuumbepárlást a sok bomlástermék miatt celite-padon történő áthúzás követte DCM-MeOH (10:1) eluensben, majd újabb bepárlás következett. A kapott terméket szilikagélen oszlopkromatográfiásan tisztítottam DCM-MeOH (10:1) eluenssel. Ezt etanolos (15 mL) eldörzsölés követte, ami sárga port eredményezett (358 mg, 1,7 %). mp. 230 °C boml. IR (KBr, cm⁻¹): 3277, 2953, 1678, 1622, 1584, 1247, 1029, 618; HRMS-ből kapott pontos tömeg C₅₂H₆₃N₈O₄⁵⁶Fe [MH]⁺ 919,4322; mért 919,4352. [α]_D²⁶: -107,0° (EtOH c = 0,02 g/100 mL). ¹H-NMR (CDCl₃): 11,20 (br s, 1H, NH, η⁵-C₅H₄-höz kapcsolódik); 8,81 (s, 1H, NH, C-9-hez kapcsolódik); 8,76 (d, 1H, J = 4,5 Hz, H-2'); 8,03 (d, 1H, J = 9,2 Hz, H-8'); 7,98 (br s, 1H, H-5'); 7,46 (d, 1H, J = 4,5 Hz, H-3'); 7,40 (dd, 1H, J = 9,2 Hz és 2,5 Hz, H-7'); 5,93 (br ~d, J~9 Hz, 1H, H-9); 5,02 és 4,13 (2 × br s, 2 × 1H, H-2,5, η⁵-C₅H₄); 4,51 (br qa, J = 8,8 Hz, 1H, H-8); 4,10 (s, 3H, OCH₃); 4,04 (br ~t, J~13 Hz, 1H, H-6_α); 3,83 és 3,56 (2 × br s, 2 × 1H, H-3,4, η⁵-C₅H₄); 3,74 (dd, J = 13,2 Hz és 9,5 Hz, 1H, H-2_{exo}); 3,24–3,16 (átfedő m, 2H, H-2_{endo}, H-6_α); 2,18 (ddd, J = 12,5 Hz, 11,2 H és 4,5 Hz, 1H, H-6_β); 2,03 (br s, H-4); 1,93–1,87 (m, 4H, H-3, H-5_α, H-5_β, H-7_β); 1,49–1,45 (m, 2H, CH₃-CH₂); 0,94 (t, 3H, J = 7,2 Hz, CH₃); 0,87 (dd, J = 13,2 and 8,8 Hz, 1H, H-7_α); ¹³C-NMR (CDCl₃): 159,0 (C-6'); 155,2 (C=O); 148,0 (C-2'); 145,4 (C-8a'); 142,6 (C-4'); 132,2 (C-8'); 128,5 (C-4a'); 122,8 (C-7'); 119,7 (C-3'); 102,5 (C-5'); 99,6 (C-1, η⁵-C₅H₄); 64,2 és 62,4 (C-3,4, η⁵-C₅H₄); 59,0 (két átfedő jel, C-2,5, η⁵-C₅H₄); 64,9 (C-8); 56,7 (C-2); 56,4 (OCH₃); 50,0 (C-9); 41,2 (C-6); 35,3 (C-3); 26,9 (CH₃-CH₂); 25,34 (C-7); 25,30 (C-4); 25,2 (C-5); 11,9 (CH₃-CH₂).

3. I. 5. 5. 1,1'-(Ferrocén-1,1'-dikarbonil-diil)-bisz-{3-[(S)-((2S, 4R, 8R)-8-etilkinuklidin-2-il)](6-metoxikinolin-4-il)metil}}tiokarbamid (61).

Az amint (48) [5,4 g, 17 mmol] és az 1,1'-bisz(karbonil-izotiocianáto)ferrocént⁵¹ (52) [2,5 g, 7,0 mmol, 30 mL száraz THF-ben bejuttatva] kevertettem száraz THF-ben (100 mL) argon atmoszféra alatt egy éjszakán át. A reakcióelegyet ezután vákuumban bepároltam, a kapott anyagot oszlopkromatográfiásan tisztítottam DCM-MeOH (15:1) eluenssel. Az így kapott, még szennyezett anyagot etanolban feloldottam, majd vízzel kicsaptam. A kromatográfiát és a kicsapást még egyszer megismételtam, hogy az IR spektrumban kimutatható, feltehetően interkalálódó izotiocianát-iontól teljesen megszabaduljak. Az így nyert tiszta anyag téglavörös por (120 mg, 1,7 %). op. 167-169 °C. IR (KBr, cm⁻¹): 2929, 2860, 1669, 1621, 1508, 1160, 838, 751; HRMS-ből kapott pontos tömeg C₅₄H₆₃N₈O₄S₂⁵⁶Fe [MH]⁺ 1007,3763; mért 1007,3776. [α]_D²⁶: -128,6° (EtOH c = 0,22 g/100 mL). ¹H-NMR

(DMSO- d_6): 11,62 (br s, 1H, $\underline{\text{NH}}$ keláton belül); 10,70 (br s, 1H, $\underline{\text{NH}}$ nem része a kelátnak); 8,74 (d, 1H, $J = 4,5$ Hz, H-2'); 7,98 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz, H-8'); 7,83 (br s, 1H, H-5'); 7,58 (d, 1H, $J = 4,5$ Hz, H-3'); 7,44 (dd, 1H, $J = 9,2$ Hz és 2,5 Hz, H-7'); 5,97 (br ~d, $J \sim 10$ Hz, 1H, H-9); 5,16 és 5,08 ($2 \times$ br s, 2H, H-2,5, $\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4$); 4,53 és 4,50 ($2 \times$ br s, $2 \times$ 1H, H-3,4, $\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4$); 3,97 (s, 3H, OCH_3); 3,50 (br t, $J = 10,0$ Hz, 1H, H-8); 3,23–3,16 (átfedő m, 2H, H-2 $_{exo}$ és H-6 $_{\alpha}$); 2,76 (ddd, $J = 12,5$ Hz, 11,2 H és 4,5 Hz, 1H, H-6 $_{\beta}$); 2,53 (dd, $J = 13,8$ Hz és 4,9 Hz, 1H, H-2 $_{endo}$); 1,68 (m, 1H, H-5 $_{\beta}$); 1,60 (br s, 1H, H-4); 1,50 (m, 1H, H-5 $_{\alpha}$); 1,44 (m, 1H, H-3); 1,28 (br dd, $J = 13,3$ Hz és 10,0 Hz, 1H, H-7 $_{\beta}$); 1,27–1,22 (átfedő m, 2H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2$); 0,95 (dd, $J = 13,5$ Hz és 8,2 Hz, 1H, H-7 $_{\alpha}$); 0,76 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, CH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): 180,4 ($\underline{\text{C}}=\text{S}$); 171,6 ($\underline{\text{C}}=\text{O}$); 158,2 (C-6'); 148,5 (C-2'); 144,5 (C-4'); 145,3 (C-8a'); 132,3 (C-8'); 128,7 (C-4a'); 122,0 (C-7'); 121,9 (C-3'); 104,0 (C-5'); 75,6 (C-1, $\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4$); 74,89 és 74,85 (C-3,4, $\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4$); 72,4 és 72,0 (C-2,5, $\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4$); 60,4 (C-8); 57,8 (C-2); 56,9 (OCH_3); 56,5 (C-9); 42,2 (C-6); 37,6 (C-3); 28,7 (C-5); 27,5 (C-4); 26,1 ($\text{CH}_3\text{-CH}_2$); 25,7 (C-7); 12,5 ($\underline{\text{CH}}_3\text{-CH}_2$).

3. 1. 5. 6. *N*-{[(*S*)-[(*2S*, *4R*, *8R*)-8-etilkinuklidin-2-il](6-metoxikinolin-4-il)metil]}ferrocén-1,1'-bisz-karboxamid (59).

Az amint (48) (470 mg, 1,4 mmol) 1,1'-bisz(fluoro-karbonil)-ferrocénnel (57) (200 mg, 2,9 mmol) (ferrocén-dikarbonsavból előállítva⁵⁶) és dimetilamino-piridinnel (DMAP) (180 mg, 2,9 mmol) együtt kevertettem DCM-ben (6 mL) argon alatt 45 percig, majd vákuumbepároltam. Az így kapott nyerterméket oszlopkromatográfiásan tisztítottam (eluens: DCM-MeOH (5:1)). Ezt dietil-éterrel történő eldörzsölés követte, ami barnássárga port eredményezett (134 mg, 21 %). op. 137,5-139,5 °C. IR (KBr, cm^{-1}): 3248, 2928, 2860, 1623, 1509, 1229, 989, 851; HRMS-ből kapott pontos tömeg $\text{C}_{52}\text{H}_{61}\text{N}_6\text{O}_4^{56}\text{Fe} [\text{MH}]^+$ 889,4104; mért 889,4130. $[\alpha]_D^{26}$: $-62,1^\circ$ (EtOH $c = 0,22$ g/100 mL). $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): 8,71 (d, 1H, $J = 4,5$ Hz, H-2'); 8,02 (br s, 1H, $\underline{\text{NH}}$); 7,93 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz, H-8'); 7,85 (br s, 1H, H-5'); 7,63 (d, 1H, $J = 4,5$ Hz, H-3'); 7,40 (dd, 1H, $J = 9,2$ Hz és 2,5 Hz, H-7'); 5,72 (br ~d, $J \sim 8$ Hz, 1H, H-9); 4,64 (br s, 2H, H-2,5, $\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4$); 4,53 és 4,50 ($2 \times$ br s, $2 \times$ 1H, H-3,4, $\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4$); 3,94 (s, 3H, OCH_3); 3,57 (br~t, $J \sim 8$ Hz, 1H, H-8); 3,38 (m, 1H, H-6 $_{\alpha}$); 3,16 (dd, $J = 12,7$ Hz és 7,3 Hz, 1H, H-2 $_{exo}$); 2,68 (ddd, $J = 12,5$ Hz, 11,2 Hz és 4,7 Hz, 1H, H-6 $_{\beta}$); 2,54 (br d, $J = 12,7$ Hz, 1H, H-2 $_{endo}$); 1,63–1,59 (átfedő m, 3H, H-4, H-5 $_{\beta}$, H-7 $_{\beta}$); 1,50–1,46 (átfedő m, 2H, H-3, H-5 $_{\alpha}$); 1,42 (m, 1H, $\text{CH}_3\text{-CH}_A\text{H}_B$); 1,35 (m, 1H, $\text{CH}_3\text{-CH}_A\text{H}_B$); 0,83 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz, CH_3); 0,74 (dd, $J = 13,2$ Hz and 7,7 Hz, 1H, H-7 $_{\alpha}$); $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6): 169,1 ($\underline{\text{C}}=\text{O}$); 158,2 (C-6'); 148,6 (C-2'); 145,9 (C-4'); 145,1 (C-8a'); 132,2 (C-8'); 128,3 (C-4a'); 122,2 (C-7'); 121,0 (C-3'); 103,8 (C-5'); 78,0 (C-1, $\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4$); 72,4 (két átfedő jel, C-3,4, $\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4$).

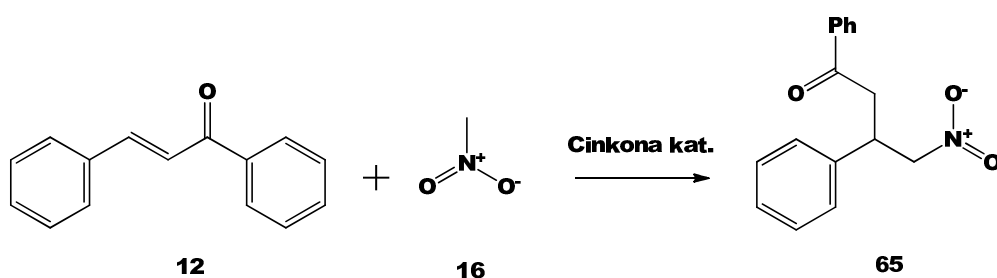
C₅H₄); 70,7 (két átfedő jel, C-2,5, η^5 -C₅H₄); 58,7 (C-8); 58,0 (C-2); 56,5 (OCH₃); 49,7 (C-9); 41,9 (C-6); 37,6 (C-3); 28,8 (C-5); 27,8 (CH₃-CH₂); 27,4 (C-7); 25,9 (C-4); 12,7 (CH₃-CH₂).

3. 1. 5. 7. *N*-{[(*S*)-[(*2S*, *4R*, *8R*)-8-etilkinuklidin-2-il](6-metoxikinolin-4-il)metil]}benzol-1,3,5-trisz-karboxamid (62).

Az amint (**48**) (3,60 g 11 mmol), piridint (0,89 mL 11 mmol) és DMAP-ot (220 mg 1,8 mmol) száraz DCM-ben (100 ml) oldottam fel. Intenzív keverés mellett, egy adagban hozzáadtam az 1,3,5-trisz(triklorokarbonil)benzolt (0,655 mL, 3,7 mmol). A 24 órás kevertetést jégre öntés követte, majd légköri nyomáson a DCM-et lepároltam. A visszamaradt vizes oldatból a csapadékot szűrtem, s szárítottam, ami során fehér port kaptam (3,6 g 87 %). op. 245 °C boml. IR (KBr, cm⁻¹): 2927, 2862, 1658, 1621, 1508, 1229, 727; HRMS-ből kapott pontos tömeg C₆₉H₈₂N₉O₆ [MH]⁺ 1132,6421; mért 1132,6388. [α]_D²⁶: -122,9° (EtOH *c* = 0,26 g/100 mL). ¹H-NMR (CDCl₃): 8,65 (d, 1H, *J*=4,5 Hz, H-2'); 8,48 (s, 1H, H-2,4,6, Ph); 8,01 (d, 1H, *J* = 9,2 Hz, H-8'); 7,95 (br s, 1H, NH); 7,67 (br s, 1H, H-5'); 7,37 (dd, 1H, *J* = 9,2 Hz és 2,5 Hz, H-7'); 7,33 (d, 1H, *J* = 4,5 Hz, H-3'); 5,45 (br ~d, *J*~10 Hz, 1H, H-9); 3,94 (s, 3H, OCH₃); 3,19 (dd, *J* = 13,9 Hz és 9,6 Hz, 1H, H-2_{exo}); 3,09–3,04 (átfedő m, 2H, H-6_α és H-8); 2,67 (m, 1H, H-6_β); 2,38 (dd, *J* = 13,9 Hz and 5,0 Hz, 1H, H-2_{endo}); 1,64 (br s, 1H, H-4); 1,62 (m, 1H, H-5_β); 1,53 (m, 1H, H-5_α); 1,43 (m, 1H, H-3); 1,35 (ddd, *J* = 13,3 Hz, 10,3 Hz és 5,0 Hz, 1H, H-7_β); 1,25 és 1,19 (2 × m, 2 × 1H, CH₃-CH₂); 0,96 (dd, *J* = 13,3 Hz és 6,4 Hz, 1H, H-7_α); 0,78 (t, 3H, *J* = 7,2 Hz, CH₃); ¹³C-NMR (CDCl₃): 165,8 (C=O); 158,3 (C-6'); 148,0 (C-2'); 145,8 (C-8'); 145,6 (C-4a); 134,7 (C-1,3,5 Ph); 132,3 (C-8'); 129,4 (C-2,4,6, Ph); 128,6 (C-4a'); 122,0 (C-7'); 119,1 (C-3'); 102,1 (C-5'); 60,7 (C-8); 56,7 (C-2); 56,0 (OCH₃); 51,7 (C-9); 41,4 (C-6); 37,5 (C-3); 29,0 (C-5); 27,7 (CH₃-CH₂); 26,1 (C-4); 25,5 (C-7); 12,3 (CH₃-CH₂).

3. II. 1. Organokatalitikus reakció vizsgálatára alkalmazott számítási módszerek

Céloomul tűztem ki néhány, még nem szintetizált cinkona alapú organokatalizátor-jelölt vizsgálatát egy jól megválasztott modellreakció egyik lépésében. A kapott eredmények alapján javaslatokat akartam tenni a katalizátorok lehetséges fejlesztési irányában, emellett mélyebben megérteni a katalizátorok működési elvét. Ahhoz, hogy megértssem a szerkezet-reaktivitás összefüggést ezen katalizátor-családon belül, egy szén-szén kötés kialakulásával járó Michael-reakció kulcslépését modelleztem. A kérdéses reakciót a 16. ábra mutatja be.



16. ábra: A modellezésre kiválasztott Michael-reakció

A reakció lépései a következők: 1, a nitrometán (16) protonálja a katalizátor kinuklidin-nitrogénjét; 2, a metilén-nitronát anion oxigénatomjaival a katalizátor karbamid-részletéhez-, míg a difenil-propenon (12) oxigénatomjával a protonált kinuklidinhez köt hidrogénkötésen keresztül; 3, megtörténik az új szén-szén kötés létrejötte a két szubsztrát között, amit a katalizátor közelsége királisan vezérel. Céлом az volt, hogy a harmadik lépést derítsem fel minél részletesebben, minél több potenciális katalizátor jelöltre. Ennek menete a következő volt: először stacionárius pontokat kellett keresnem a kiindulási anyagok – katalizátor és a termék – katalizátor alkotta adduktra. Ezt nagyban segítette, a geometriaoptimalás során kiindulási koordinátákként kezelt saját „minimális” rendszer számított koordinátái (ebben az esetben a katalizátoron a metoxi-kinolin-részlet helyett csupán piridin-, az etil-kinuklidin helyett kinuklidin volt, a tiokarbamidhoz kapcsolódó aromás rendszer pedig csupán fenilcsoport volt) és a már hivatkozott⁴¹ Hamza és csoportjának koordinátái. A kapott lokális minimumokat ezután QST3 módszer ismételt alkalmazásával (az átmeneti állapot kiinduló koordinátáit először a már említett minimál rendszerből kölcsönözve, majd újra és újra javítva) igyekeztem átmeneti állapotokkal (TS) összekötni.

Ahhoz, hogy a kapott TS-t validáljam, IRC számításokkal ellenőriztem, hogy valóban a két kívánt lokális minimumot köti össze, s nem egy másik elsőfajú nyeregponjt találtam meg a molekula-komplex konformációs viszonyait leíró sokdimenziós hiperfelületnek. Az IRC számítást annyi pontig végeztem, hogy vizuálisan is egyértelmű legyen, hogy a vizsgált TS a kérdéses szén-szén kötés kialakulásához tartozik (nem pedig például egy metilcsoport rotációjához). Ezeket a számításokat a jól bevált, s igen népszerű B3LYP/6-31G(d) funkcionál-bázis kettőssel végeztem⁵⁷. A kapott, szerkezetenként három stacionárius pontban újrászámoltam az elektronenergiát (M06-2X/6-311G(d))⁶⁴ nagyobb bázison, s újabb, de energiaszámításokon bizonyított⁴² funkcionállal. Mindezt annak érdekében tettem, hogy pontosabb elektronenergiákat kapjak. Hogy megvizsgálhassam a bázisfüggést, az atomonként majdnem kétszer akkora, kiegyensúlyozottabb 6-311(2df,p) bázissal újrászámoltam ugyanazon funkcionállal (M06-2X) az összes eredményt. Abból kifolyóan, hogy ionok is részt vesznek a vizsgált modellreakcióban, mindenképpen szükségesnek tűnt, hogy az oldószerhatást is figyelembe vegyem. Ehhez IEFPCM⁶⁵ módszerrel, a dielektromos állandót $\epsilon = 2,374$ -nek véve toluolos oldószert modellezve újrászámoltam (M06-2X/6-311G(d)) az összes megtalált stacionárius pontban az elektronenergiát. Az eredmények értékelése során az egyes katalizátorjelölteket a reakció kiindulási geometriáját-, és az átmeneti állapotot jellemző elektronenergiák különbségével jellemezem.

3. II. 2. Eredmények ismertetése

3. II. 2. 1. Számítási eredmények bemutatása

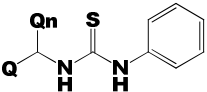
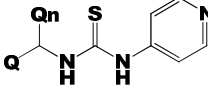
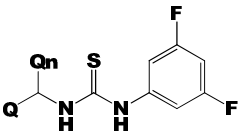
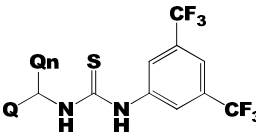
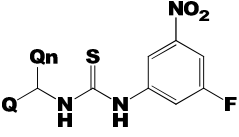
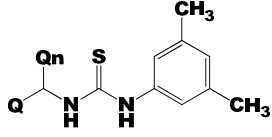
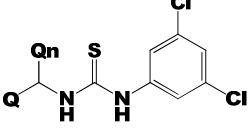
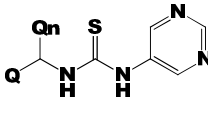
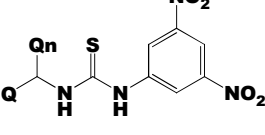
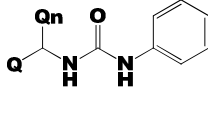
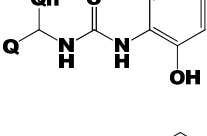
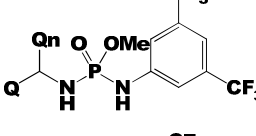
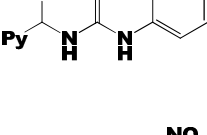
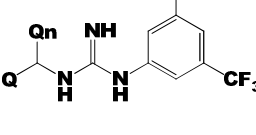
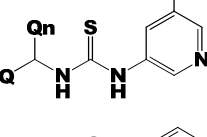
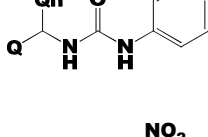
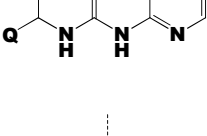
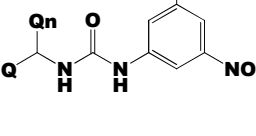
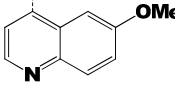

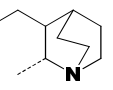

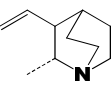
Bár mintegy két tucat katalizátor-jelölt vizsgálatát kezdtem meg, összesen 17 esetben sikerült egyértelműen megtalálnom az átmeneti állapot geometriáját, így a következőkben ezeket és az irodalomban fellelhető⁴¹, már vizsgált katalizátor eredményeit hasonlítom össze a két oldalall később található 2. táblázat segítségével. Az összehasonlítások alapján arra törekszem, hogy megalapozott, szerkezet-reaktivitás összefüggéseket mutathassak be. A vizsgált katalizátorok három, átfedő halmazba csoportosíthatók: az első halmazt a tiokarbamidok (**66a-m**) adják, melyek *N*-aril/heteroaril-csoportjaikban különböznek, így ebben a halmazban lehetőség nyílik a különböző arilcsoportok hatásának vizsgálatára. A második halmazt (**66a, f, g, n-p, r**) olyan katalizátorok alkotják, melyben a hidrogénkötés-

donor rendszer változtatásának hatását figyelhetjük meg: tiokarbamid helyett karbamid, guanidin, foszfonamid továbbá az aromás gyűrűhöz kapcsolódó hidroxilcsoport építhet ki új hidrogénkötést. Az utolsó, s legkisebb halmazban a **(66g, n, q)** a kinuklidingyűrű szubsztituensében lévő nitrogénatom bázicitásának hatását lehet vizsgálni.

Fontos kihangsúlyozni, hogy a három különböző módon számolt elektronenergia-különbségek a teljes sorozaton belül szisztematikusan térnek csak el – két katalizátorjelölt közötti aktivációs energiák különbsége mindhárom módszerrel gyakorlatilag azonos. Például a bázishatás vizsgálata azt mutatja, hogy a 6-311G(d) és 6-311G(2df,p) bázissal számolt értékek között a korreláció 0,999, annak ellenére, hogy az utóbbi ~70 %-kal nagyobb. Ez a megnyugtató azonosság az oldószer-modellnél is fennáll, és pozitív visszaigazolásként arról árulkodik, hogy ennyire hasonló molekuláris rendszereknél igazán alacsony szórással (~1-2 kJ/mol) alkalmazhatom az általam választott elméleti módszert két katalizátor-rendszer összehasonlítására.

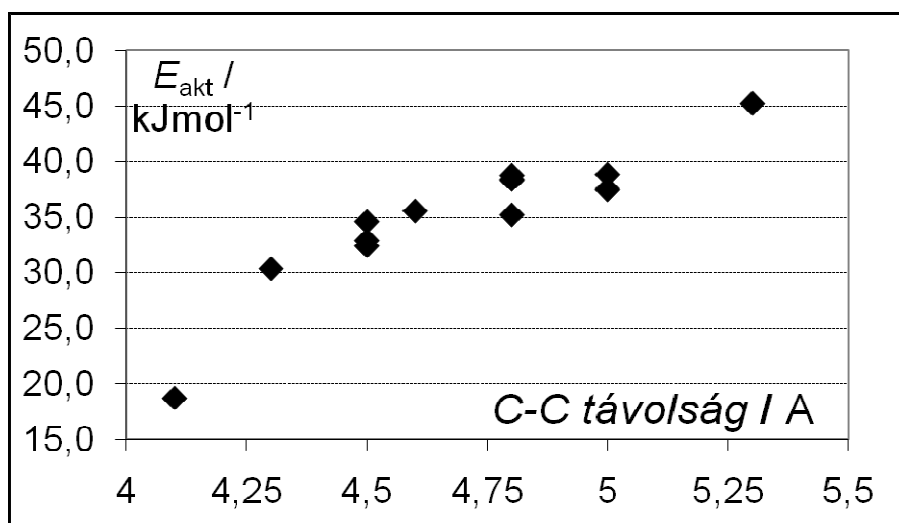
2. táblázat: Három módszerrel számított aktivációs energiák (kJ/mol),

$$E_1 = E_{\text{akt}[6-311\text{G}(\text{d})]} \quad E_2 = E_{\text{akt}[6-311\text{G}(2\text{df},\text{p})]} \quad E_3 = E_{\text{akt}[6-311\text{G}(\text{d})/\text{IEFPCM}]}$$

Szerkezet	Nr.	E_1	E_2	E_3	Szerkezet	Nr.	E_1	E_2	E_3
	66a	38,3	45,1	37,9		66j	38,4	45,0	38,1
	66b	35,2	42,5	35,0		66k	32,4	39,8	32,2
	66c	32,9	40,2	32,2		66l	38,9	45,3	36,8
	66d	35,5	42,6	35,5		66m	34,6	41,9	33,9
	66e	18,7	27,1	18,8		66n	37,4	43,9	35,2
	66f	75,5	82,2	74,2		66o	57,7	64,3	55,0
	66g	38,8	45,4	37,5		66p	45,3	53,4	43,3
	66h	30,3	37,9	30,0		66q	37,5	44,1	35,5
	66i	55,8	62,9	56,4		66r	26,5	34,3	25,4
<p>Röv. : Q:  Py:  Qn:  Qn'':  Qn*: </p>									

Kezdeként az arilcsoportok hatását vizsgáltuk az aktivációs energiára. Az első halmaz vizsgálata alapján egyértelműen látszik, hogy a $-I$ vagy $-M$ szubsztituensek hiánya (**66a**) nagyobb aktivációs energiával jár a szén-szén kötés létrejöttékor. Ezzel összhangban az elektronsűrűséget növelő szubsztituensek (**66f, k**) az átmeneti állapotra ugyancsak ilyen, de ennél erősebb destabilizációs hatásuk van. Várakozásaimmal ellentétben a savas, fenolos hidroxilcsoport a metilén-nitronát közelségében nem segít a TS energiájának csökkentésében, mert az aromás gyűrű felé kifejtett elektronküldő hatása ezt túlkompenzálhatja. Ezért még azzal is számolni kell (de ezt az alkalmazott módszerrel modellezni nem lehet), hogy az aromás gyűrű elektronsűrűségének növekedtével a hasznos, s említett H(aromás)-S(tiokarbamid) kötés gyengül, ami kedvezőtlen entrópikus faktort vonhat be a reakcióba, így összefoglalva nem érdemes az elektronküldő szubsztituensek felé „elmozdulni”.

A számítások alapján az N-H savasságot növelő aril-szubsztituensek (**66c, e, h, r**) „jótékony” hatást fejtenek ki az átmeneti állapot energiájára. Ez lehet az egyik oka, miért annyira népszerű a 3,5-bisz-(trifluormetil)-fenil-csoport az *N*-aril szubsztituensek körében. Egy sokkal érdekesebb (előre általam legalábbis nem várt) aspektusa a számításoknak, hogy erős korreláció mutatkozik aközött, hogy az átmeneti állapotban a szubsztrát 1,3-difenil-propenon (**12**) fenilcsoportja mennyire közelíti meg a katalizátorban a *N*-aril szubsztituenst, ami egy kevésbé nyilvánvaló π - π kölcsönhatás fontosságát emeli ki. Az érdekes összefüggést ábrázolja a 17. ábra (**66f, i, o** eredményeit kihagytam, mert a szubsztituensek miatt nem azonos és összevethető a geometria).



17. ábra: Az aktivációs energia és a katalizátor-szubsztrát fenilgyűrűk közötti távolság

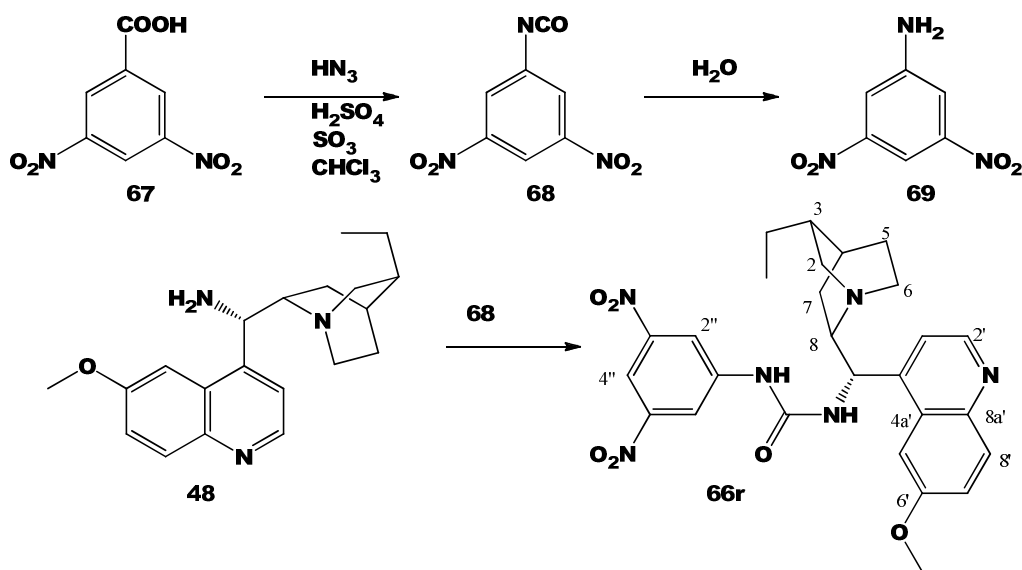
A hatás felerősítéséhez elég, ha a trifluormetil-csoportokat nitrocsoporthoz cseréljük, ekkor mind a tiokarbamid (**66e**), mind a karbamid (**66r**) esetében igen alacsony aktivációs energiát lehetett számolni, ami nagyban motivált, hogy preparatív kísérleteket is végezzek a témában. Egy másik, kisebb kölcsönhatás, amit az irodalom legjobb tudomásom szerint nem tárgyal, hogy ahogyan az aromás gyűrű egyik hidrogénatomja a tiokarbamid kénatomja felé létesít H-kötést, úgy a hozzá képest meta-helyzetben lévő másik hidrogénatom éppen a metilén-nitronát oxigénatomja felé mutat 2,6 Å távolsággal. Ez egy gyengébb, de jelenlévő kölcsönhatás lehet, ami befolyásolhatja a reakciót (így a C-H savasságot befolyásoló szubsztituensek ebből a szemszögből is hathatnak a reakció kimentelére).

A **66b** és **66d** modellek összevetése alapján nincs egyértelmű hatása a fluoratomok klórra cserélésének, ugyanakkor a lépésenkénti fluor-nitro csere (**66b**, **c**, **e**) drámaian csökkentti az aktiválási energiát. Érdekes, hogy a gyűrűn belül lévő piridines nitrogénatom cseréje nitrocsoporthoz hordozó szénatomra (**66m**, **h**, **e**) ugyanezt a tendenciát mutatja, ami fontos figyelmeztetés, hogy egy ilyen katalizátorban csupán a gyűrű elektronsűrűségének csökkentésével nem várt kedvezőtlen hatások jöhetnek elő.

A kininrészletet és a fenilgyűrűt összekötő hidrofil csoportok közül a tiokarbamid tűnt a legjobbnak, ugyanakkor a **66a**, **n** összevetése azt mutatja, hogy a hatás nem annyira egyértelmű szemben a **66e**, **r** esettel. Ezen a ponton mindenképpen ki kell hangsúlyozni a tényt, hogy az általam alkalmazott modell a reakció csupán egy kiragadott (bár kulcs-) lépését vizsgálja, s ebből igyekszem globális következtetést levonni. Emiatt sem entrópikus effektusokkal nem számolok, sem más reakció-útvonalakkal, mellékreakciókkal, amik a molekula megváltoztatásával ugyancsak fontosak lehetnek. Hogy bebizonyítsam, mennyire óvatosnak kell lenni az egyes kijelentéseknek, sőt inkább csupán javaslatoknak, nézzük a **66n** – **66q** összevetést! Saját modellem alapján nem várunk érdemi hatást a kinuklidingyűrű etilcsoportjának vinilre cserélésétől (gyakorlatban fordítva: a természetes eredetű kininben a vinilcsoportot kell hidrogénezzni), ami a gyakorlatban²⁹ komoly hatáscsökkenést vált ki a katalizátorban egy *through space* kedvezőtlen kölcsönhatás miatt.

3. II. 2. 2. Preparatív eredmények bemutatása

A számítási eredmények arra sarkalltak, hogy érdemes egy új katalizátort előállítani, és egy-két modellreakcióban megvizsgálni, miként működik az elmélet a gyakorlatban. A legígéretesebb dinitrofenil-tiokarbamid **66e** előállítását kíséreltem meg. A kiindulási 3,5-dinitro-benzoészavból Schmidt-reakcióval⁶⁶ a kívánt 3,5-dinitro-anilin képződött, de ebből irodalmi reprodukcióval⁶⁷ (tiofoszfénnel) többszöri próbálkozással, módosítással sem sikerült a célterméket tisztán kinyerni (megj.: lehetséges, hogy a kromatotronos tisztítás hiánya vezetett csupán ide, de a kérdéses közlemény eljárásában szerintem hibák vannak; pl.: etanolos oldószerben megy a céltermék izotiocianát szintézise, az én esetemben ebből etil-tiokarbamátot sikerült kinyernem...). Ezután a **66r** anyag előállítását céloztam meg, ehhez az izocianátot kereskedelemből be lehetett szerezni szemben az izotiocianáttal (az elvégzett, sikeres reakciókat a 18. ábra hivatott összefoglalni).



18. ábra: Katalizátor szintézise, s atomjainak számozás

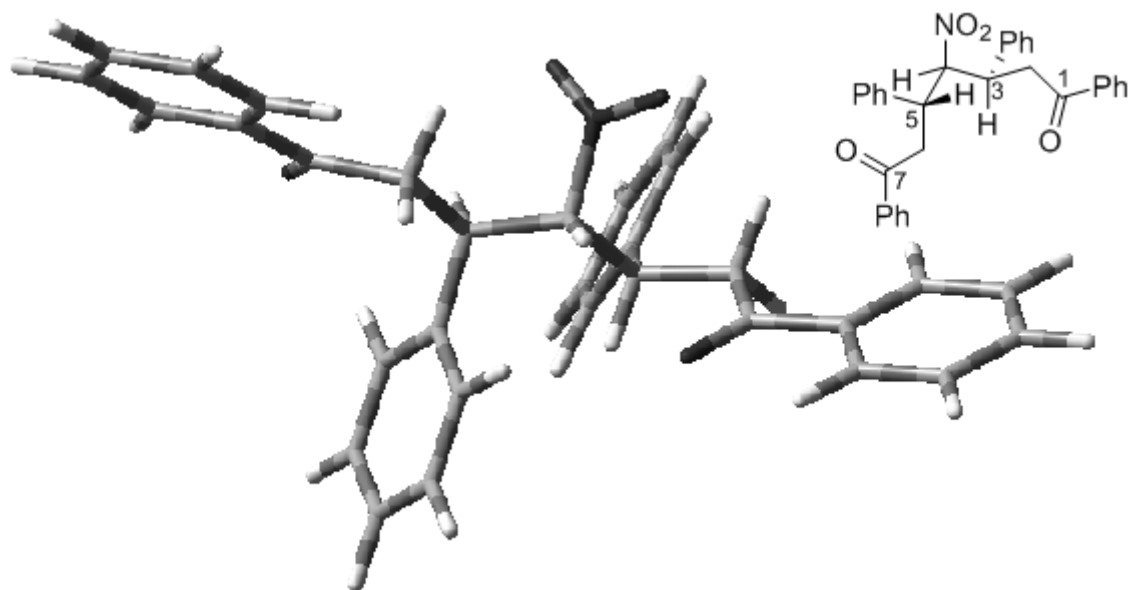
A már előző fejezetekben ismertetett [(*S*)-((2*S*, 4*R*, 8*R*)-8-etilkinuklidin-2-il)](6-metoxikinolin-4-il)metánamint⁵⁰ (**48**) reagáltattam 3,5-dinitrofenil-izocianáttal (**68**). Modellreakciónak értelemszerűen a számolásokban is vizsgált 1,3-difenil-propenon, nitrometán rendszert választottam. A kísérleteket négy különböző oldószerben hajtottam végre. Mivel a reakció igen lassú lefolyású volt, ezért ledugóztam lombikban hagytam keveredni a teszteket a feltüntetett ideig. Az alkalmazott hőmérséklet minden esetben szobahőmérsékletet jelentett, s a katalizátor mennyisége 10 % volt. A termeléseket,

enantiomer felesleget (mérését megköszönöm Varga Szilárdnak) és alkalmazott reakcióidőt a 3. táblázat foglalja össze.

3. táblázat: Próbareakciók a 66r katalizátorral

Szolvens	Reakcióidő t / d	Izolált termelés Y / %	Enantiomer felesleg ee / %
DCM	49	81	93
Toluol	30	57	94
MeOH	36	-	-
THF	7	-	-

Mint látható, a reakciót alacsony TOF (*turn over frequency*) és magas ee (enantiomer felesleg) jellemzi, emellett erős oldószerfüggést mutat, kevésbé poláris, hidrogénkötést nem létesítő oldószerek alkalmazása javasolt. A gyenge TOF-ot a megnövelt Lewis-savasság miatti aggregációval magyarázhatjuk: az erősebb π - π kölcsönhatás mind a katalizátor önaggregációjának, mind a termékkel létesített stabilabb addukt képződésének kedvezhet. Örömmel tapasztaltam, hogy a megcélzott főtermék mellett megjelent egy olyan királis heptándion (**70**) (9 %), aminek képződését ilyen reakciókban még nem írták le, s legjobb tudomásom szerint enantio-, és diasztereoselektív szintézisét irodalom még nem tárgyalja. Hasonló vegyületet pedig eddig csak belső tükörsíkkal („mezo” diasztereomer) tudtak előállítani, aminek meglétét a mi esetünkben mind az optikai forgatásmérés eredménye-, mind az NMR-ben megjelenő jelek száma egyértelműen kizárja⁶⁸. A vegyület szerkezetének feltárásához az NMR alapján valószínűsített szerkezet legjellemzőbb konformerét B3LYP/6-31G(d,p) szinten optimálva alig mutatkozott eltérés az NMR alapján történt predikció és a DFT számítás eredménye között. A vegyület szerkezetét túloldalon a 19. ábra mutatja be.



19. ábra: 70-es vegyület egy konformerének számolt-, és projektált szerkezete az NMR értékelésben használt számozással

3. II. 3. Kísérleti rész

3. II. 3. 1. *N*-{[(*S*)-[(*2S*, *4R*, *8R*)-8-etilkinuklidin-2-il](6-metoxikinolin-4-il)metil]}dinitrofenilkarbamid (**66r**)

[(*S*)-((*2S*, *4R*, *8R*)-8-etilkinuklidin-2-il](6-metoxikinolin-4-il)metánamint⁵⁰ (**48**) [0,52 g, 1,4 mmol] és dinitrofenil-izocianátot (**68**) [0,30 g, 1,4 mmol] absz. THF-ben [15 ml] inert atmoszféra alatt kevertettem három napon át, majd szárazra pároltam. A visszamaradt szilárd anyagot szilikagélen oszlop-kromatografáltam DCM-MeOH (20:1) eluenssel, ami üveges, sárgás port eredményezett (661 mg, 81 %). *op.* 162-164 °C. $[\alpha]_D^{25}$: 35,0 (*c* = 0,94 g/100cm³ EtOH). IR (ATR, cm⁻¹): 3267, 2927, 2826, 1699, 1621, 1540, 1343, 1222, 729; HRMS-ből kapott pontos tömeg C₂₇H₃₁N₆O₆ [MH]⁺ 535,2305; mért 535,2295. ¹H-NMR (CDCl₃): 9,29 (br s, 1H, NH-3,5-di-NO₂C₆H₃); 6,56 (br s, 1H, NH-C-9); 8,76 (d, *J*=4,7 Hz, 1H, H-2'); 8,42 (d, *J*=1,7 Hz, 2H, H-2'',6''); 8,39 (t, *J*=1,7 Hz, 1H, H-2''); 8,00 (d, *J*=9,2 Hz, 1H, H-8'); 7,71 (br s, 1H, H-5'); 7,40 (dd, *J*=9,2 Hz and 2,6 Hz, 1H, H-7'); 7,38 (d, *J*=4,7 Hz, 1H, H-3'); 5,68 (br ~s, 1H, H-9); 4,01 (s, 3H, OCH₃); 3,61 (m, 1H, H-6_α); 3,44 (br ~s, 1H, H-8); 3,19 (dd, *J*=13,5 Hz és 10,1 Hz, 1H, H-2_{exo}); 2,86 (ddd, *J*=12,5 Hz, 11,2 Hz és 4,5 Hz, 1H, H-6_β); 2,36 (dd, *J*=13,5 Hz és 4,9 Hz, 1H, H-2_{endo}); 1,78 (br ~t, *J*~13 Hz, 1H, H-5_β); 1,74 (~qa, *J*~3 Hz, 1H, H-4); 1,67-1,60 (átfedő m, 2H, H-5_α and H-7_β); 1,55 (m, 1H, H-3); 1,31-1,23 (átfedő m, 2H, CH₃-CH₂); 0,95 (dd, *J*=13,3 Hz és 6,2 Hz, H-7_α); 0,79 (t, *J*=7,3 Hz, 3H, CH₃-CH₂); ¹³C NMR (CDCl₃): 159,0 (C-6'); 154,8 (NH-CO-NH); 148,8 (C-3'',5''); 147,9 (C-2'); 145,2 (C-8a'); 144,3 (C-4'); 142,5 (C-1''); 132,1 (C-8'); 128,6 (C-4a'); 122,9 (C-7'); 119,0 (C-3'); 117,9 (C-2'',6''); 111,5 (C-4''); 102,0 (C-5'); 60,5 (C-8); 57,7 (C-2); 56,3

(OCH₃); 50,6 (C-9); 41,9 (C-6); 36,8 (C-3); 27,8 (C-5); 27,6 (CH₃-CH₂); 26,4(C-7); 25,1 (C-4); 12,1 (CH₃-CH₂).

3. II. 3. 2. Modellreakciók általános sémája a 66r katalitikus aktivitásának bizonyítására

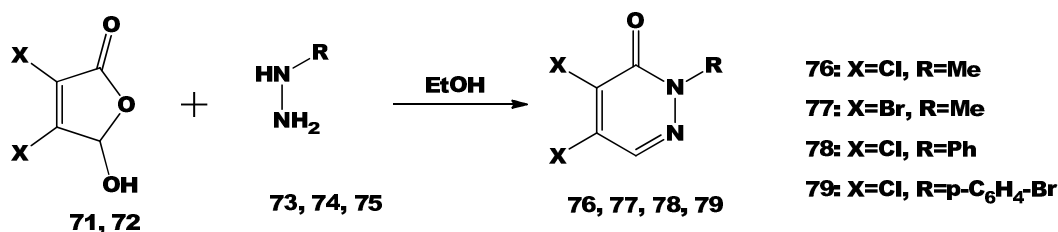
Difenil-propenont [0,32 g, 1,5 mmol], nitrometánt [0,42 ml, 7,7 mmol] és a katalizátort [0,082 g, 0,15 mmol, 10 %] a megfelelő oldószerben [10 ml] kevertettem szobahőmérsékleten a 3. táblázat által megadott ideig. A reakció előrehaladását VRK alkalmazásával követtem a később is eluensként használt oldószerkeverékben. Bepárlást követően a szilárd anyagot szilikagélen elválasztottam ciklohexán-etilacetát (3:1) eluenssel. A kapott minta analitikai és spektroszkópiás adatai az irodalommal egyezést mutattak²⁹; a termelést és enantiomer felesleget ugyancsak a 3. táblázat tünteti fel.

3. II. 3. 3. (3*R*,5*R*)-4-nitro-1,3,5,7-tetrafenilheptán-1,7-dion (70) izolálása

Ha a modellreakciót toluolban végeztem, egy minor termék jelent meg, amit hagyományos oszlopkromatográfiával nem sikerült elkülönítenem, ugyanakkor ipari együttműködés keretén belül (Richter Gedeon Gyógyszergyár) preparatív HPLC módszerrel, fehér porként lehetett izolálni (Kovács Zoltánnak köszönöm a segítséget) a kalkon prekursorra számított 9 %-os termeléssel. op. 68-70 °C. IR (ATR, cm⁻¹): 3059, 3030, 1682, 1596, 1544, 1448, 1242, 747, 688; [α]_D²⁵=19,0 (*c* = 0,14 g/100cm³ EtOH). ¹H-NMR (CDCl₃): 8,00 (d, *J*=7,8 Hz, 2H, H-2',6' [C-1 fenilcsoportja]); 7,90 (d, *J*=7,8 Hz, 2H, H-2',6' [C-7 fenilcsoportja]); 7,68 (t, *J*=7,8 Hz, 1H, H-4' [C-1 fenilcsoportja]); 7,62 (t, *J*=7,8 Hz, 1H, H-4' [C-7 fenilcsoportja]); 7,68 (t, *J*=7,8 Hz, 1H, H-4' [C-1 fenilcsoportja]); 7,56 (t, *J*=7,8 Hz, 2H, H-3',5' [C-1 fenilcsoportja]); 7,50 (t, *J*=7,8 Hz, 2H, H-3',5' [C-7 fenilcsoportja]); 7,47-7,43 (átfedő m, 5H, H-2'-6' [C-3 fenilcsoportja]); 7,40-7,36 (átfedő m, 3H, H-3'-5' [C-5 fenilcsoportja]); 7,14 (m, 2H, H-2',6' [C-5 fenilcsoportja]); 5,69 (dd, *J*=9,7 Hz és 5,9 Hz, 1H, H-4); 4,11 (td, *J*=9,7 Hz és 2,6 Hz, 1H, H-5); 4,03 (dt, *J*=8,0 Hz és 5,9 Hz, 1H, H-3); 3,78 (dd, *J*=18,0 Hz és 8,0 Hz, 1H, H-2_A); 3,63 (dd, *J*=16,8 Hz és 9,7 Hz, 1H, H-6_A); 3,40 (dd, *J*=18,0 Hz és 5,9 Hz, 1H, H-2_B); 3,37 (dd, *J*=16,8 Hz és 2,6 Hz, 1H, H-6_B); (H-2_B és H-6_B dd-jei, részlegesen átfedve); ¹³C NMR (CDCl₃): 197,7 (C-1); 197,2 (C-7); 138,9 (C-1' [C-3 fenilcsoportja]); 137,8 (C-1' [C-5 fenilcsoportja]); 137,09 és 137,07 (két C-1' jel [C-1 és C-7 fenilcsoportjai]); 133,8 (C-4' [C-1 fenilcsoportja]); 133,6 (C-4' [C-7 fenilcsoportja]); 129,4 (két összeolvadó vonal, C-2',6' és C-3',5' [C-5 fenilcsoportja]); 129,3 (két összeolvadó vonal C-4' jelei, [C-3 és C-5 fenilcsoportjai]); 129,07 (két összeolvadó jel, C-2',6' és C-3',5' [C-3 fenilcsoportja]); 129,06 (C-3',5' [C-1 fenilcsoportja]); 128,9 (C-3',5' [C-7 fenilcsoportja]); 128,40 és 128,38 (két C-2',6' jel [C-1 és C-7 fenilcsoportjai]); 94,2 (C-4); 42,3 (két összeolvadó jel, C-5 és C-6); 41,7 (két összeolvadó jel C-2 és C-3). HRMS-ből kapott pontos tömeg C₃₁H₂₇NO₄Na [MNa]⁺ 500,1838; mért 500,1846.

3. III. 1. Ferrocént és piridazinon egységet tartalmazó új vegyületek szintézise

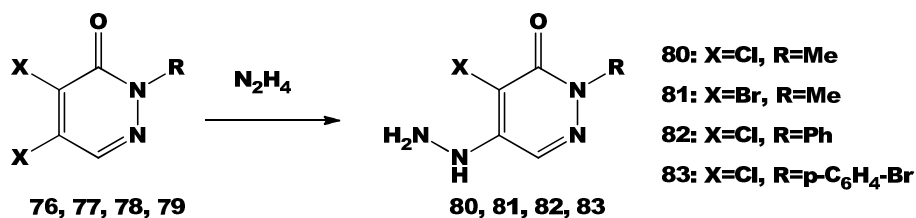
Célvegyületeim előállításához az első (I) kutatási témámhoz hasonlóan prekursorok szintézisével kezdődött a gyakorlati munka. Első lépésem a piridazinon gyűrű kiépítése volt, melyet mukoklórsav vagy mukobrómsav alkil- vagy aril-hidrazinokkal történő reakciójában⁶⁹ állítottam elő egy egyszerű gyűrűzárási reakcióban, mint azt a 20. ábra is mutatja. A reakció forró alkoholban ment le, a feldolgozás majdnem teljes bepárlással, s szűréssel kezdődött.



20. ábra: Piridazinongyűrű kiépítése

A **76**-os vegyület (4,5-diklór-2-methylpiridazin-3(2*H*)-on) tisztításakor víz-etanol(1:9) elegyből kristályosítottam át, a **77**-es vegyületnél (4,5-dibrom-2-methylpiridazin-3(2*H*)-on) víz-etanol (1:1) elegyből átkristályosítottam a nyersterméket. **78**-as (4,5-diklór-2-fenilpiridazin-3(2*H*)-on) és **79**-es (2-(4-brómfenil)-4,5-diklórpíridazin-3(2*H*)-on) vegyület esetében a forralás után elegendő volt a szűrés és vizes eldörzsölés.

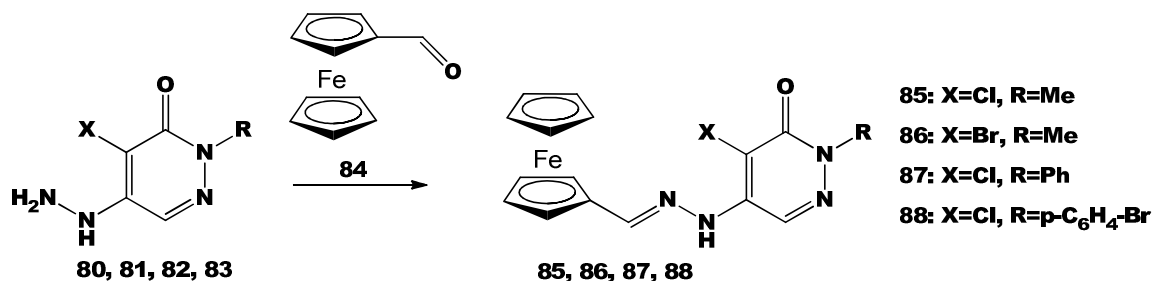
Ezeket a reakciókat a funkcionálizálás követte, hogy utána a ferrocénegységet lehessen bevinni a molekulába. Ehhez az ötös helyzetben lévő, a másik halogénatomnál nukleofil reagensekkel sokkal jobban támadható halogén szubsztitúcióját hajtottam végre hidrazin-hidrát felesleggel történő metanolos forralással.



21. ábra: Hidrazinnal szubsztituált piridazinonok szintézise

A kapott nyerstekek feldolgozása bepárlással kezdődött ~ 10 %-ra, majd izopropanolos és éteres eldörzsölés következett **80**, **81** esetben. A **82** esetben negyedére párlás, szűrés és vizes mosás alkotta a feldolgozást, míg a **83**-as anyagnál a bepárlást elhagytam (a **82** (4-klór-5-hidrazinil-2-fenilpiridazin-3(2*H*)-on)-t nem sikerült tisztán izolálnom, de további tisztítás helyett, s nagyobb ekvivalensben alkalmaztam, szennyezőitől így könnyebb volt a későbbiekben megszabadulnom).

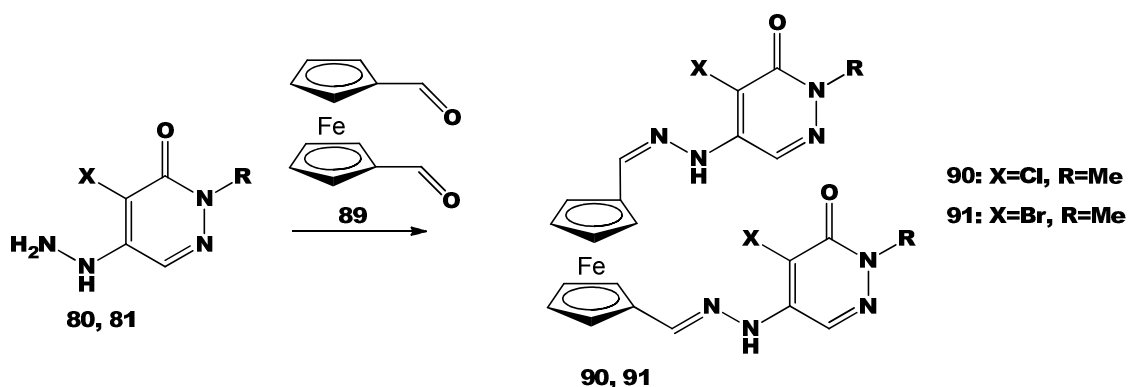
Az így nyert termékeket már könnyen lehetett a piacon elérhető legegyszerűbb funkcionizált ferrocénnel, a ferrocén-karbaldehiddel (**84**) kondenzációs reakcióba vinni, aminek eredményeképpen hidrazonokat kaptam. A reakció általános sémáját a 22. ábra mutatja.



22. ábra: Ferrocenil-hidrazonok szintézise

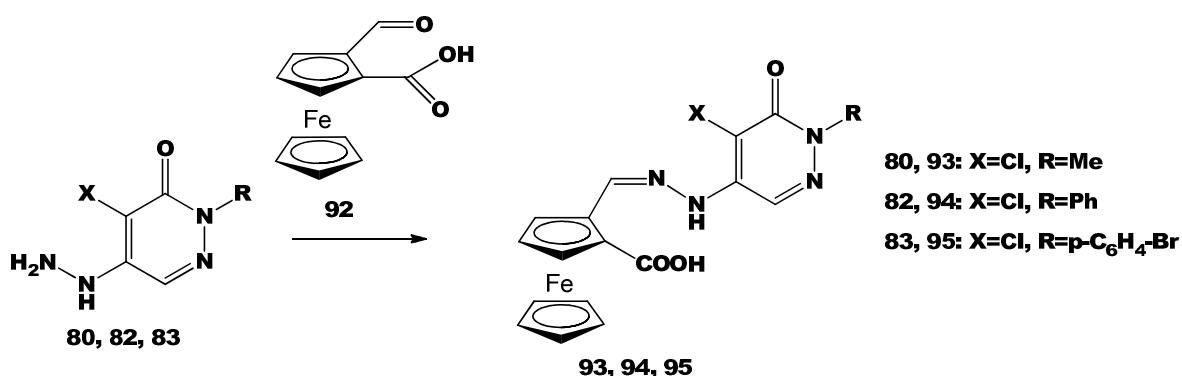
A reakciók argon atmoszférában, etanolos forralással történtek, részletes leírásukat a kísérleti részben teszem meg a **85**-ös vegyület kivételével, melyből feldolgozás után rögtön további reakciókat hajtottam végre, több fizikai/spektroszkópai paraméterét nem határoztam meg (minor szennyezés miatt), így az anyag részletes leírását sem közlöm.

Hasonló módon jártam el az 1,1'-ferrocén-dikarbaldehidből kiinduló (köszönöm Gyömöre Ádámnak, hogy rendelkezésemre bocsátotta) szimmetrikus vegyületek szintézisének (23. ábra) és az (*S_p*)-2-formil-ferrocén-karbonsavból (köszönöm Csókás Dánielnek, hogy megosztotta velem az általa szintetizált vegyületét) kiinduló hidrazon-szintézisének.



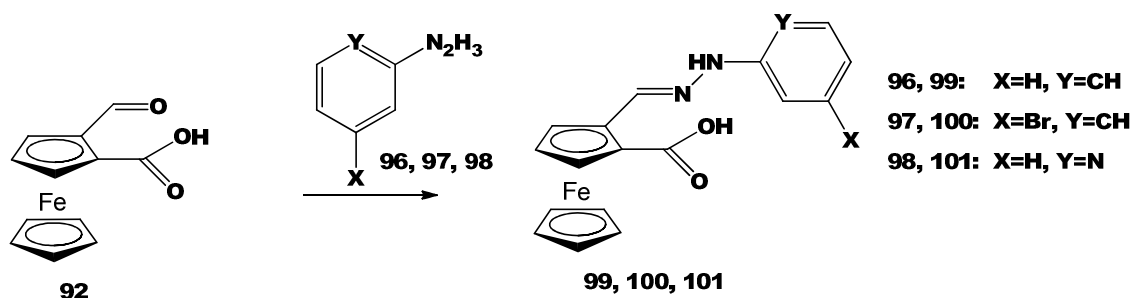
23. ábra: Szimmetrikus hidrazonok szintézise

Az előbbi esetben a jelenlévő minor szennyezők miatt az anyag karakterizálásától eltekintek, de a belőle kiinduló szintézis eredményeképpen sikerült új anyagokat izolálnom, melyek szerkezete igazolta a prekursorét. A planárisan királis hidrazonok szintézisét a 24. ábra mutatja be.



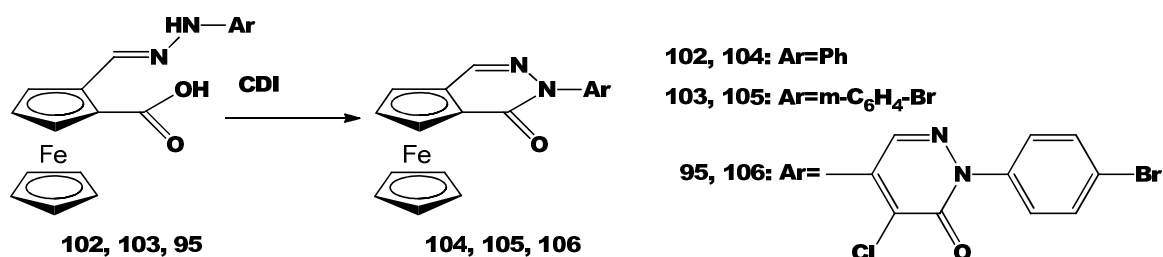
24. ábra: Planárisan királis hidrazonok szintézise

Hasonlóan az előbbiekhöz, a királis (S_p)-2-formil-ferrocén-karbonsavból kiindulva egyszerűbb aril-hidrazinokkal is végrehajtottam a kondenzációt, célom ugyanakkor a kapott hidrazinokban új piridazinongyűrű bezárása volt, így annak prekursorát csak abban az egy esetben írom le részletesen a kísérleti részben, melyben túl alacsony termeléssel ment a kondenzáció ahhoz, hogy továbbmenjek a termékből. A **99**-es vegyületet már korábban leírta a kutatócsoportunk⁷⁰, a szintézist a 25. ábra mutatja be.



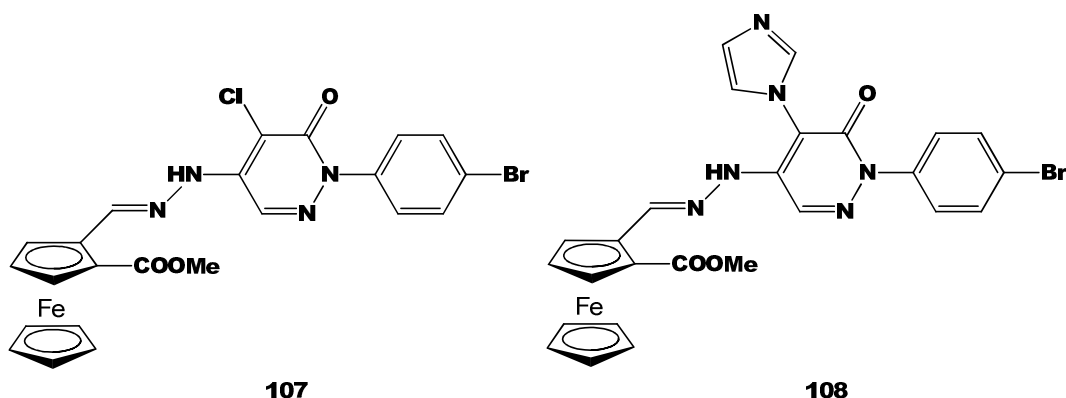
25. ábra: További királis hidrazonok szintézise

A kérdéses, ferrocénnel kondenzált piridazinon gyűrűt eddig nem tudták bezárni, a cianur-fluoridos aktiválás csupán kevésbé elektronszívott alkil-hidrazonok bezárására volt alkalmas⁷⁰, így feladatomban volt a megfelelő stratégia kidolgozása. A karbonildiimidazol megfelelő aktiválószernek bizonyult, amivel három esetben sikeresen végre tudtam hajtani a gyűrűzárást THF-ben 20-30 %-os termelés mellett. Megfigyeléseim szerint az alkalmazott gyűrűzárási reakció „csúcstípusú reakció”: reakció-paraméterekre, így koncentrációra erősen érzékeny, és ez az érzékenység csak fokozódik a hidrazin aril-szubsztituensének elektronvonzó jellegével (ezt támasztja alá, hogy kollégám, Csókás Dániel hidrazinnal 80-90 %-os termeléssel tudta ugyanezt a gyűrűt bezárni). Ahhoz, hogy a gyűrűzárási hidrazinvegyületek széles körére kiterjeszthető legyen, további optimalálás, a rendelkezésemre álló eszközöknél hatékonyabb *in situ* reakció során végzett analízis szükséges. A három piridazinont a 26. ábra mutatja be.



26. ábra: Ferrocénnel kondenzált piridazinonok szintézise

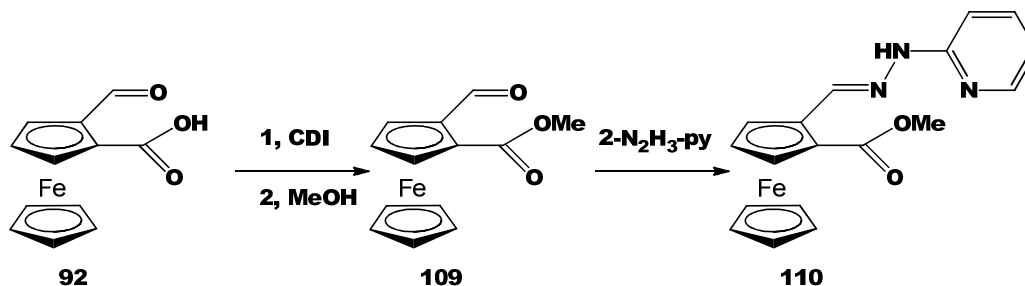
Az optimalálás során egy várható melléktermék is megjelent az egyik reakcióban, amit izoláltam, s a preparatív részben bemutatok. Emellett egy kevésbé várt, másik mellékterméket is sikerült „NMR minta mennyiségben” (2,6 mg) izolálni, de a hiányzó többi spektrumadat- és fizikai paraméterek miatt nem tárgyalom a preparatív részben.



27. ábra: A 103-as vegyület szintézisének izolált melléktermékei

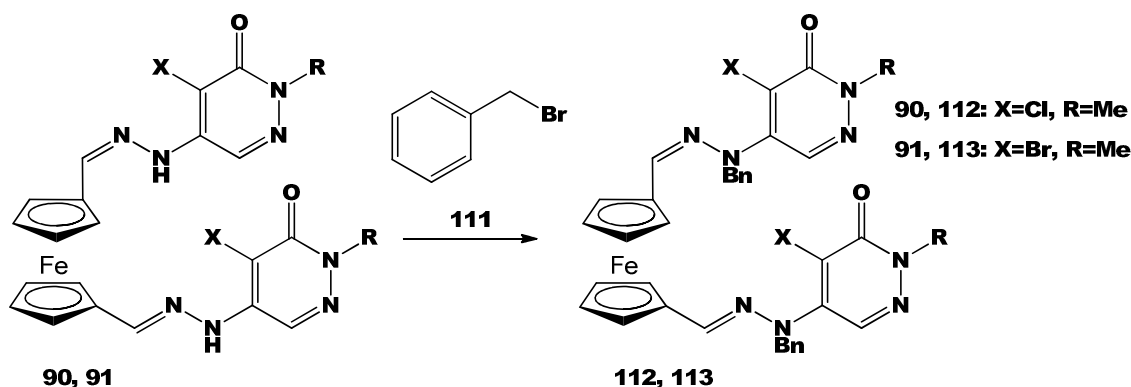
A **107**-es termék az imidazol-szubsztituált karbonilcsoport metanolos „kvencselésének” terméke: egyszerű metilészter, míg a **108**-as termékben az imidazol szubsztituálta a piridazinon gyűrűt négyes helyzetben.

További gyűrűzárási kísérleteket végeztem a 2-hidrazino-piridin hidrazonjával. Feltételeztem, hogy a reakció azért sikertelen, mert a ferrocénen lévő karboxilcsoport protonálja a piridin nitrogénatomját, így egyszerre deaktiválva az aril-hidrazin-részletet és nagyban növelve a karbonil-szénatom körüli elektronsűrűséget. Ennek kivédésére metilészterből indultam ki, de több próbálkozásom is kudarcot vallott a gyűrű bezárására, így a **110**-es vegyületet küldtem biológiai vizsgálatra (előállítását a 28. ábra mutatja be).



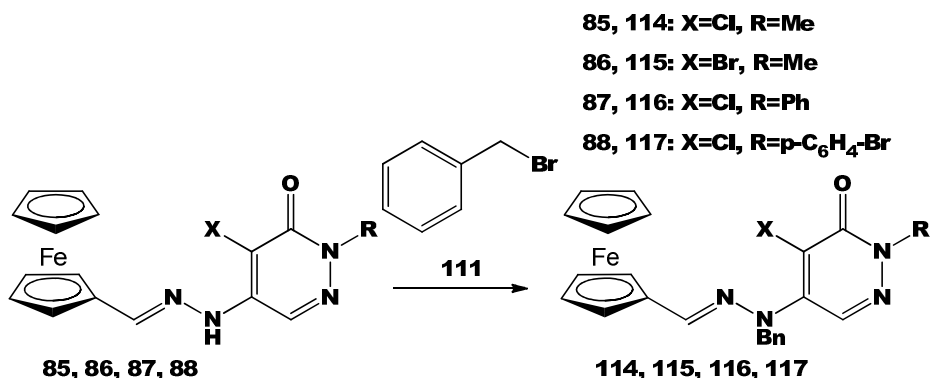
28. ábra: Prekurzor szintézise gyűrűzárási kísérletekhez

Az adott témakörben utolsó feladatokat a korábban felsorolt hidrazonok *N*-benzilezése alkotta. Célom kettős volt: az előállított vegyületek néhány tagjáról már megemlítettem, hogy nem sikerült teljesen tisztán izolálni, így olyan származékolást kívántam végrehajtani, mellyel vegyületeimet sokkal könnyebben tisztíthattam szilikagéles oszlopkromatográfiával. Emellett a hidrazon mobilis, könnyen támadható N-H részletét kívántam lecserélni ugyanezzel a módszerrel.



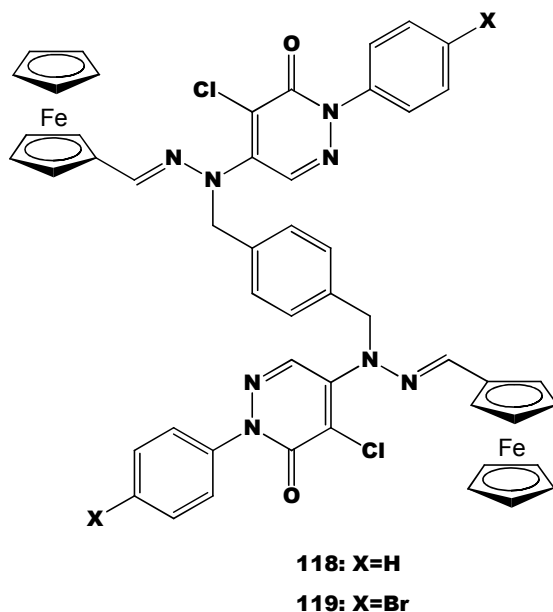
29. ábra: Szimmetrikus hidrazonok benzilezése

A rutinreakció forró acetonitrilben (vagy acetonban), kálium-karbonát bázissal ment argon alatt. A feldolgozás vegyületenként eltér (oldószeres eldörzsölés, oszlopkromatográfia), ezt a preparatív részben részletezem minden feltüntetett vegyületre (a 29. ábra mutatja be a szimmetrikus hidrazonok benzilezését). Titkolt reményünk volt, hogy az I. témámban bemutatott eredményekhez hasonlóan ebben az esetben is lesz különbség a mono- és diszubsztituált ferrocének között.



30. ábra: „Mono”-hidrazonok benzilezése

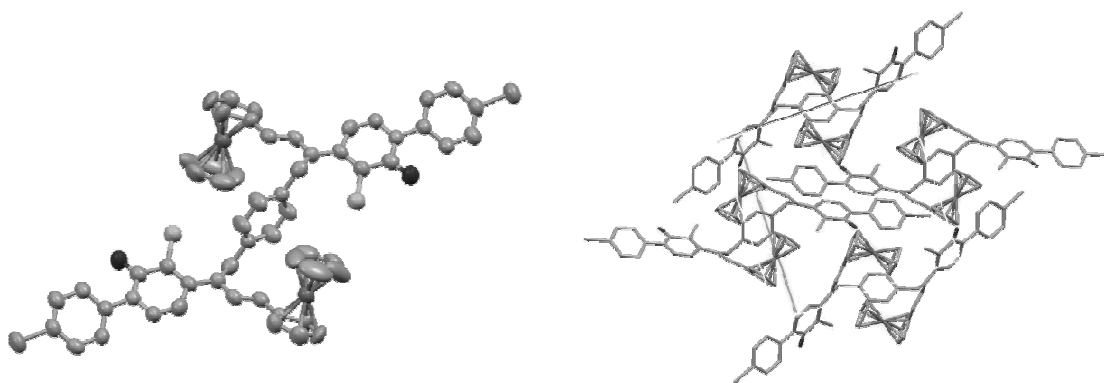
Ugyanezt a rutinreakciót alkalmaztam a „mono”-hidrazonok benzilezésére, minden esetben sikerrel (sémáját a 30. ábra mutatja be). Két további szimmetrikus hidrazont hoztam létre a kiindulási anyagaimból, amikor azokat benzilbromid helyett 1,4-bisz(brómmetil)benzollal hajtottam végre az alkilezést. A kapott szerkezetet a 31. ábra hivatott bemutatni.



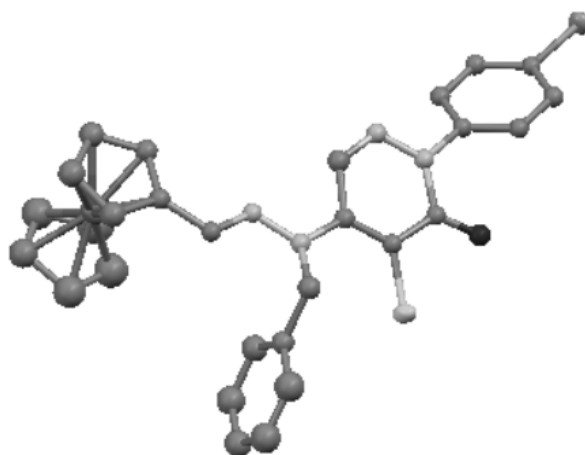
31. ábra: További két szimmetrikus hidrazon szerkezete

3. III. 2. Az előállított vegyületek szerkezeti felderítése, röntgendiffrakciós eredmények

Érdekes véletlen, hogy bár jó pár anyagomból próbáltam röntgendiffrakcióra alkalmas egykristályt növeszteni, először éppen a legnagyobb mólusúlyú anyag (~ 1125 g/mol) (**119**) volt az, ami megfelelő alakban kikristályosodott. Emellett ugyan ennek az anyagnak a „monomere” (**117**) is mérésre alkalmas kristályt szolgáltatott. A röntgendiffrakciós méréseket Czugler Mátyás, Palló Anna és Holczbauer Tamás hajtotta végre. A vegyületeket az atomokon termikus ellipszoidokkal, s egy kristályszerkezetet a 32. ábra és a 33. ábra mutatja be, szerkezetük az NMR és HRMS mérések által megjósoltakkal megegyezik



32. ábra: Szimmetrikus hidrazon (119) szerkezete és kristályrácsban belüli elhelyezkedése



33. ábra: Egy ferrocént tartalmazó hidrazon (117) szerkezete

3. III. 3. Biológiai vizsgálatok: vegyületeim *in vitro* aktivitásai emberi rákos sejtvonalakon

A biológiai vizsgálatokat Zupkó János végezte. A szintetizált vegyületek rákos sejtvonalak növekedését gátló hatását a 4. táblázat foglalja össze. Bár nincs általánosan elfogadott küszöbérték az antiproliferatív hatásfokra, 20 % inhibíció alatt nem tekinthető hatásosnak a kérdéses vegyületet, így annak eredményét nem részletezem. Az antiproliferatív hatás legtöbb esetben mérsékelt, s nem függ nagymértékben a vizsgált sejtípustól, így néhány kivételtől eltekintve egy nem specifikus kölcsönhatás körvonalazódik ki.

A vastartalmú ferrocén önmagában nem biztosítja a hatást, mivel vannak hatástalan vegyületek (pl.: **93, 94**). Ugyancsak ezt támasztja alá a két ferrocént tartalmazó vegyület (**118, 119**) hatástalansága is. A hatásnak kedvezhet a ferrocénre kondenzált piridazinon, míg a gyűrű nyitásával számottevő mértékben csökken az antiproliferatív effektus (vö. **106, 95** és **107**). Az említett kondenzált piridazinon (**106**) hatékonysága 30 μ M koncentrációban A2780 petefészekrák sejtvonalon éppen csak elmarad a ciszplatinétól, bár kisebb koncentrációban ennél lényegesen gyengébb a hatása. Ehhez hasonló eredményeket mutat ezen a sejtvonalon a monosubsztituált (**116**) *N*-fenil származék. A tesztelt sorozat leghatékonyabb elemei a szimmetrikusan funkcionizált, 1,1'-bissubsztituált ferrocének (**112, 113**), ezek közül is a négyes helyzetben klóratomot hordozó piridazinon hatásosabb, mint a hasonló bróm származék. Érdekes, hogy a **112** vegyület MCF7 mellrák sejtvonalon 10 μ M koncentrációban a ciszplatinével összevethető hatással rendelkezik, ugyanakkor háromszoros koncentrációnövekedéssel a hatás messze elmarad (részleges agonistákéra emlékeztető viselkedés). Bár a vegyületek nem haladják meg a ciszplatin hatékonyságát, a bemutatott eredmények, *hit* szintű találatok kijelölik azt az utat, amelyen irányban az alkalmazott vegyületeket fejleszthetjük a hatékonyabb biológiai aktivitás érdekében.

4. táblázat: Vegyületeim *in vitro* növekedés inhibíció értékei emberi rákos sejtvonalon

Vegyület	<i>c</i> / μM	Növekedés inhibíció (%) \pm Átlag standard hibája			
		HeLa	MCF7	A2780	A431
112	10	57,31 \pm 0,43	51,19 \pm 0,47	26,31 \pm 1,17	37,64 \pm 1,23
	30	54,46 \pm 0,65	58,18 \pm 0,92	27,18 \pm 2,12	50,77 \pm 0,86
113	10	37,60 \pm 1,45	26,26 \pm 0,87	21,27 \pm 0,57	—*
	30	42,38 \pm 2,14	34,77 \pm 1,17	38,63 \pm 0,90	—
87	10	—	—	—	—
	30	32,79 \pm 0,87	70,44 \pm 0,69	66,09 \pm 0,14	26,49 \pm 2,22
116	10	—	—	22,53 \pm 2,18	—
	30	24,27 \pm 1,37	—	93,23 \pm 0,79	20,08 \pm 2,75
86	10	—	—	22,83 \pm 1,17	—
	30	20,33 \pm 2,17	51,22 \pm 0,49	59,72 \pm 0,68	—
88	10	32,95 \pm 2,37	29,50 \pm 0,47	22,19 \pm 1,97	—
	30	45,56 \pm 2,52	43,97 \pm 0,39	31,26 \pm 1,86	—
115	10	—	—	—	—
	30	—	30,95 \pm 1,23	64,27 \pm 0,44	—
114	10	28,63 \pm 2,54	38,08 \pm 1,35	—	—
	30	30,30 \pm 2,38	39,26 \pm 1,51	41,07 \pm 1,73	—
95	10	—	—	—	—
	30	—	—	32,34 \pm 2,75	—
106	10	—	22,89 \pm 1,75	27,62 \pm 1,94	32,17 \pm 1,84
	30	61,73 \pm 1,00	65,15 \pm 2,54	92,04 \pm 0,44	67,52 \pm 0,88
107	10	—	—	—	—
	30	—	23,63 \pm 1,38	29,36 \pm 1,50	—
110	10	—	—	—	—
	30	24,00 \pm 2,93	—	85,95 \pm 2,70	—
Ciszplatin	10	42,61 \pm 2,33	53,03 \pm 2,29	83,57 \pm 1,21	88,54 \pm 0,50
	30	99,93 \pm 0,26	86,90 \pm 1,24	95,02 \pm 0,28	90,18 \pm 1,78

* Csak a 20% inhibíciót elérő vegyületek eredményeit tüntettem fel.

3. III. 4. Kísérleti rész

Az antiproliferatív hatás meghatározásához a növekedésgátlás-mérések négy malignáns sejtvonalon történtek (ECACC, Salisbury, UK): HeLa (méhnyakrák), MCF7 (mellrák), A2780 (petefészekrák) és A431 (bőrrák). A sejteket a minimálisan szükséges közegben tenyésztették ki 10 % FBS, 1 % nem esszenciális aminosav, antibiotikum és antimikotikum keverékében, amit a PAA Laboratories GmbH-től szereztek be (Pasching, Austria). A közel teljesen összenövő ráksejteket 96-tányéros lemezre vitték fel, átlagosan 5000 sejt/tányér sűrűségben. Egyéjszakás állás után 200 μ L térfogatú oldatban kezelték a sejtenyészeteket a vizsgált vegyületekkel (10- és 30 μ M végső koncentrációban). Az élő sejteket 37 °C-on, párás, 5 % CO₂-t tartalmazó atmoszférában, 72 órás inkubáció után 20 μ L, 5 mg/mL MTT-vel kezelték. 4 óra kontaktidő után a sejtek mitokondriális reduktáza által képzett, kiüledő formazán kristályokat 100 μ L DMSO-ban 1 órás rázatással oldották fel 25 °C-on. A redukált MTT mennyiségét 545 nm-en működő mikrolemez-leolvasóval határozták meg, s a kezeletlen sejteket alkalmazták referenciának⁵⁹. Minden *in vitro* mérés két mikrolemezen folyt, legalább öt párhuzamos tányéron. Ciszplatint (klinikai szinten alkalmazott rákellenes hatóanyag) alkalmaztak pozitív kontrollként. A vizsgált vegyületeket DMSO-s oldatban alkalmazták (10 mM), a sejtproliferációra ennek nem volt számottevő hatása.

Az egyes vegyületek optikai forgatóképességének meghatározásához AA-10R automata polarimétert (Optical Activity Ltd.) használtam, az alkalmazott oldószert a meghatározott forgatóképesség után tüntetem fel.

3. III. 4. 1. Általános eljárás a ferrocén-hidrazonok előállítására

A kiindulási formil-ferrocént, (S_p)-2-formil-ferrocén-karbonsavat vagy 2-formil-ferrocén-karbonsav-metilésztert inert atmoszféra alatt forraltattam etanolban az általam korábban szintetizált piridazinil-hidrazin kis (5-10 %) feleslegében. VRK alapján, ha a reakció leállt, még adtam hidrazin-származékot a reakcióelegyhez (erre két esetben volt szükség, amit azzal magyarázok, hogy a kiindulási hidrazin a tárolás során lassan bomolhatott). A forralás időtartama az alkalmazott vegyületektől függően egytől hat óráig

terjedt. A termék tisztítása a legtöbb esetben szilikagélen történő oszlopkromatográfiával kezdődött DCM-MeOH eluenssel, vegyületenként változó eluens-erősséggel (15:1-től 50:1-ig). Ha az NMR-mérés szennyeződést mutatott ki oszlopozás után is, úgy oldószeres eldörzsölés következett, ezt az adott esetben, külön-külön feltüntettem.

3. III. 4. 1. a. (*E*)-5-(2-(ferrocenil-metilén)hidrazinil)-4-klór-2-fenil-piridazin-3(2*H*)-on (87)

A kiindulási formil-ferrocént (**84**) [0,70 g, 3,3 mmol] és a 4-klór-5-hidrazinil-2-fenilpiridazin-3(2*H*)-ont (**82**) [1,6 g, 6,9 mmol] etanolban [20 ml] hat órán át forraltattam. A terméket először vízzel, majd metanol-víz 3:1 eleggyel dörzsöltem. Az exsikkátoros szárítást DCM-MeOH 50:1 eluenssel történő kromatografálás követte. A kapott anyag élénkvörös por (966 mg, 71 %). op. 194 °C, boml. IR (ATR, cm⁻¹): 3179, 3097, 3037, 2946, 1631, 1591, 1422, 1114, 834, 760; ¹H-NMR (DMSO-d₆): 10,6 (s, 1H, NH, hidrazon); 8,44 (s, 1H, C-6, piridazinon); 8,26 (s, 1H, CH, hidrazon); 7,52 (d, 2H, *J* = 7,5 Hz, H-2, H-6, Ph); 7,48 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz, H-3, H-5, Ph); 7,39 (t, 1H, *J* = 7,5 Hz, H-4, Ph); 4,70 (s, 2H, H-2, H-5, szubszt. Cp); 4,43 (s, 2H, H-3, H-4, szubszt. Cp); 4,23 (s, 5H, szabad Cp); ¹³C-NMR (DMSO-d₆): 157,8 (C=O, piridazinon); 147,9 (C-5, piridazinon); 142,5 (CH, hidrazon); 142,2 (C-1, Ph); 129,4 (C-3, C-5, Ph); 129,0 (C-6, piridazinon); 128,6 (C-4, Ph); 126,6 (C-2, C-6, Ph); 104,1 (C-4, piridazinon), 79,8 (C-1, szubszt. Cp); 71,1 (C-3, C-4, szubszt. Cp); 69,9 (CH, szabad Cp); 68,3 (C-2, C-5, szubszt. Cp). HRMS-ből kapott pontos tömeg C₂₁H₁₈N₄OCl⁵⁶Fe [MH]⁺ 433,0519; mért 433,0516.

3. III. 4. 1. b. (*E*)-5-(2-(ferrocenil-metilén)hidrazinil)-4-bróm-2-metil-piridazin-3(2*H*)-on (86)

A kiindulási formil-ferrocént (**84**) [0,70 g, 3,3 mmol] és a 4-bróm-5-hidrazinil-2-metilpiridazin-3(2*H*)-ont (**81**) [0,86 g, 3,93 mmol] etanolban [20 ml] egy órán át forraltattam, bepároltam, és DCM-MeOH 30:1 eluenssel kromatografáltam. A kapott anyag barnászörös por (527 mg, 39 %). op. 142 °C, boml. IR (ATR, cm⁻¹): 3174, 3096, 3034, 2947, 1622, 1601, 1423, 1104, 813, 741; ¹H-NMR (DMSO-d₆): 8,49 (s, 1H, NH, hidrazon); 8,16 (s, 1H, H-6, piridazinon); 7,26 (s, 1H, CH, hidrazon); 3,80 (s, 3H, CH₃); 4,61 (s, 2H, H-2, H-5, szubszt. Cp); 4,42 (s, 2H, H-3, H-4, szubszt. Cp), 4,22 (s, 5H, szabad Cp); ¹³C-NMR (DMSO-d₆): 158,4 (C=O, piridazinon); 145,6 (C-5, piridazinon); 143,2 (CH, hidrazon); 127,3 (C-6, piridazinon); 97,5 (C-4, piridazinon); 78,6 (C-1, szubszt. Cp); 70,7 (C-3, C-4, szubszt. Cp); 69,9 (CH, szabad Cp); 68,2 (C-2, C-5, szubszt. Cp); 41,0 (CH₃). HRMS-ből kapott pontos tömeg C₁₆H₁₆N₄O⁵⁶FeBr [MH]⁺ 414,9857; mért 414,9854.

3. III. 4. 1. c. (*E*)-5-(2-(ferrocenil-metilén)hidrazinil)-2-(4-brómfenil)-4-klórpíridazin-3(2*H*)-on (88)

A kiindulási formil-ferrocént (84) [0,41 g, 1,9 mmol] és a 2-(4-brómfenil)-4-klór-5-hidrazinilpiridazin-3(2*H*)-ont (83) [0,60 g, 1,9 mmol] etanolban [25 ml] 200 percen át forraltattam, bepároltam és DCM-MeOH 50:1 eluenssel kromatografáltam. A kapott anyag narancsvörös por (846 mg, 87 %). op. 194 °C, boml. IR (ATR, cm⁻¹): 3175, 3096, 3032, 1616, 1593, 1422, 1107, 826, 812, 607, ¹H-NMR (DMSO-d₆): 8,54 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz, H-2 és H-6 BrC₆H₄); 8,44 (s, 1H, H-6, piridazinon); 8,04 (br, 1H, hidrazon NH); 7,86 (br, 1H, hidrazon CH); 7,58 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz, H-3 és H-5 BrC₆H₄); 4,65 (br, 2H, H-2 és H-5 szubszt. Cp); 4,46 (brs, H-3 és H-4 szubszt. Cp); 4,24 (s, 5H, szabad Cp); ¹³C-NMR (DMSO-d₆): 157,6 (C=O, piridazinon); 146,4 (C=N, hidrazon); 141,03 és 141,00 (C-N, piridazinon és C-N, BrC₆H₄ átfednek); 132,1 (C-2 és C-6, BrC₆H₄); 128,9 (C-H, piridazinon); 127,3 (C-3 és C-5, BrC₆H₄); 122,0 (C-1, BrC₆H₄); 106,0 (C-Cl, piridazinon); 78,4 (C-1, szubszt. Cp); 71,2 (C-3 és C-4, szubszt. Cp); 69,6 (CH, szabad Cp); 68,2 (C-2 és C-5, szubszt. Cp). HRMS-ből kapott pontos tömeg C₂₁H₁₇N₄OCl⁵⁶FeBr [MH]⁺ 510,9624; mért 510,9616.

3. III. 4. 1. d. (*S_p*)-(*E*)-2-((2-(5-klór-6-oxo-1-fenil-1,6-dihidropiridazin-4-il)hidrazono)metil)-ferrocén-karbonsav (94)

A kiindulási (*S_p*)-2-formil-ferrocén-karbonsavat (92) [0,40 g, 1,6 mmol] és a 4-klór-5-hidrazinil-2-fenilpiridazin-3(2*H*)-ont (82) [0,73 g, 3,1 mmol] etanolban [20 ml] 130 percig forraltattam, bepároltam és DCM-MeOH 20:1 eluenssel kromatografáltam. A kapott anyag fahéjszínű por (620 mg, 84 %). op. 184 °C, boml. IR (ATR, cm⁻¹): 2900 (széles), 1618, 1586, 1419, 1209, 1126, 827, 758, 688, [α]_D²⁵: 17,1° (EtOH *c* = 0,55 g/100 mL). ¹H-NMR (DMSO-d₆): 12,57 (br, 1H, COOH), 10,96 (s, 1H, NH, hidrazon); 8,96 (s, 1H, CH, hidrazon); 8,49 (s, 1H, C-6, piridazinon); 7,52 (d, 2H, *J* = 7,5 Hz, H-2, H-6, Ph); 7,48 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz, H-3, H-5, Ph); 7,39 (t, 1H, *J* = 7,5 Hz, H-4, Ph); 5,17 (s, 1H, H-3, szubszt. Cp); 4,93 (s, 1H, H-5, szubszt. Cp); 4,68 (s, 1H, H-4, szubszt. Cp); 4,27 (s, 5H, szabad Cp); ¹³C-NMR (DMSO-d₆): 173,2 (COOH); 157,5 (C=O, piridazinon); 147,3 (CH, hidrazon); 142,5 (C-1, Ph); 142,4 (C-5, piridazinon); 129,4 (C-3, C-5, Ph); 129,2 (C-6, piridazinon); 128,6 (C-4, Ph); 126,6 (C-2, C-6, Ph); 104,5 (C-4, piridazinon); 81,3 (C-2, szubszt. Cp); 73,8 (C-4, szubszt. Cp); 72,7 (C-5, szubszt. Cp); 71,9 (C-1, szubszt. Cp); 71,7 (CH, szabad Cp); 70,0 (C-3, szubszt. Cp). HRMS-ből kapott pontos tömeg C₂₂H₁₈N₄O₃Cl⁵⁶Fe [MH]⁺ 477,0417; mért 477,0410.

3. III. 4. 1. e. (*S_p*)-(E)-2-((2-(5-klór-1-metil-6-oxo-1,6-dihidropiridazin-4-il)hidrazono)metil)-ferrocén-karbonsav (93)

A kiindulási (*S_p*)-2-formil-ferrocén-karbonsavat (**92**) [0,21 g, 0,83 mmol] és a 4-klór-5-hidrazinil-2-metilpiridazin-3(2*H*)-ont (**80**) [0,16 g, 0,92 mmol] etanolban [15 ml] 50 percig forraltattam, bepároltam. DCM-MeOH 15:1 eluenssel kromatografáltam (megfigyeléseim szerint az anyag a szilikagél állófázison bomlott, így annak csúcsa maga után húzta a bomlásterméket). A kapott anyag okkersárga por (58 mg, 17 %). op. 235 °C, boml. IR (ATR, cm⁻¹): 3201, 2878 (széles), 1616, 1596, 1432, 1226, 1107, 784, 721, [α]_D²⁵: 6,3° (EtOH:DCM 1:1 *c* = 0,53 g/100 mL). ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): 12,55 (brs, 1H, COOH); 10,75 (s, 1H, NH, hidrazon); 8,89 (s, 1H, CH, hidrazon); 8,28 (s, 1H, H-6, piridazinon); 5,13 (brs, 1H, H-3, szubszt. Cp); 4,91 (brd, 1H, *J* = 2,5 Hz, H-5, szubszt. Cp); 4,66 (t, 1H, *J* = 2,5 Hz, H-4, szubszt. Cp); 4,25 (s, 5H, szabad Cp); 3,30 (s, 3H, CH₃); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): 173,2 (COOH); 157,9 (C=O, piridazinon); 146,6 (CH, hidrazon); 142,7 (C-5, piridazinon); 127,8 (C-6, piridazinon); 104,4 (C-4, piridazinon); 81,4 (C-2, szubszt. Cp); 73,7 (C-4, szubszt. Cp); 72,6 (C-5, szubszt. Cp); 71,9 (C-1, szubszt. Cp); 71,7 (CH, szabad Cp); 69,9 (C-3, szubszt. Cp); 41,4 (CH₃). HRMS-ből kapott pontos tömeg C₁₇H₁₆N₄O₃Cl⁵⁶Fe [MH]⁺ 415,0260; mért 415,0264.

3. III. 4. 1. f. (*S_p*)-(E)-2-((2-(1-(4-brómfenil)-5-klór-6-oxo-1,6-dihidropiridazin-4-il)-hidrazono)metil)ferrocén-karbonsav (95)

A kiindulási (*S_p*)-2-formil-ferrocén-karbonsavat (**92**) [0,50 g, 1,9 mmol] és a 2-(4-brómfenil)-4-klór-5-hidrazinilpiridazin-3(2*H*)-ont (**83**) [0,68 g, 2,2 mmol] etanolban [30 ml] 80 percig forraltattam, bepároltam. DCM-MeOH 20:1 eluenssel kromatografáltam. A kapott termék rozsdavörös por (808 mg, 75 %). op. 186 °C, boml. IR (ATR, cm⁻¹): 2875 (széles), 1685, 1623, 1583, 1401, 1214, 1107, 1001, 818, 477, [α]_D²⁵: 11,6° (EtOH *c* = 0,27 g/100 mL). ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): 12,66 (s, 1H, COOH); 11,12 (s, 1H, NH, hidrazon); 9,07 (s, 1H, CH, hidrazon); 8,62 (s, 1H, H-6, piridazinon); 7,79 (d, 2H, *J* = 8,7 Hz, H-2, H-6, BrC₆H₄); 7,64 (d, 2H, *J* = 8,7 Hz, H-3, H-5, BrC₆H₄); 5,29 (br, 1H, H-3, szubszt. Cp); 5,05 (br, 1H, H-5, szubszt. Cp); 4,80 (tr, 1H, *J* = 2,5 Hz, H-4, szubszt. Cp); 4,38 (s, 5H, szabad Cp); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): 173,1 (COOH); 157,4 (C=O, piridazinon); 147,4 (CH, hidrazon); 142,4 (C-5, piridazinon); 141,7 (C-4, BrC₆H₄); 132,3 (C-2, C-6, BrC₆H₄); 129,6 (C-6, piridazinon); 128,6 (C-3, C-5, BrC₆H₄); 121,3 (C-1, BrC₆H₄); 104,3 (C-4, piridazinon); 81,2 (C-2, szubszt. Cp); 73,8 (C-4, szubszt. Cp); 72,7 (C-5, szubszt. Cp); 71,9 (C-1, szubszt. Cp); 71,7 (CH, szabad Cp); 70,0 (C-3, szubszt. Cp); ¹⁵N-NMR (DMSO-*d*₆): 332 (N-1, piridazinon); 308 (N=C, hidrazon); 205 (N-2, piridazinon); 146 (NH, hidrazon). HRMS-ből kapott pontos tömeg C₂₂H₁₇N₄O₃Cl⁵⁶FeBr [MH]⁺ 554,9522; mért 554,9532.

3. III. 4. 1. g. (*S_p*)-(E)-2-((2-(piridin-2-il)hidrazono)metil)ferrocén-karbonsav (101)

A kiindulási (*S_p*)-2-formil-ferrocén-karbonsavat (**92**) [0,50 g, 1,9 mmol] és a 2-hidrazinopiridint (**98**) [0,21 g, 1,9 mmol] etanolban [30 ml] 70 percig forraltattam, s bepároltam, vákuumexszikkátorban szárítottam. A kapott termék barna por (670 mg, 98 %). op. 205 °C, boml. IR (ATR, cm⁻¹): 3108, 2692 (széles), 1616, 1441, 1287, 1106, 1005, 768, 681, 620, [α]_D²⁵: 7,8° (DMSO *c* = 0,23 g/100 mL). ¹H-NMR (DMSO-d₆): 12,40 (brs, 1H, COOH); 10,68 (s, 1H, NH, hidrazon); 8,49 (s, 1H, CH, hidrazon); 8,09 (brd, 1H, *J* = 4,2 Hz, H-6, py); 7,61 (ddd, 1H, *J* = 8,4 Hz, 7,1 Hz, 1,5 Hz, H-4, py); 7,13 (d, 1H, *J* = 8,4 Hz); 6,73 (dd, 1H, *J* = 7,1 Hz, 4,2 Hz, H-5, py); 5,06 (br, 1H, H-3, szubszt. Cp); 4,88 (br, 1H, H-5, szubszt. Cp); 4,62 (t, 1H, *J* = 2,3 Hz, H-4, szubszt. Cp); 4,25 (s, 5H, szabad Cp); ¹³C-NMR (DMSO-d₆): 173,3 (COOH); 158,1 (C-2, py); 148,6 (C-6, py); 139,7 (CH, hidrazon); 138,6 (C-4, py); 115,4 (C-5, py); 107,1 (C-3, py); 83,4 (C-2, szubszt. Cp); 73,0 (C-5, szubszt. Cp); 71,9 (C-4, szubszt. Cp); 71,5 (CH, szabad Cp); 70,8 (C-1, szubszt. Cp); 69,6 (C-3, szubszt. Cp). ¹⁵N-NMR (DMSO-d₆): 316 (N=C, hidrazon); 266 (py); 153 (NH, hidrazon). HRMS-ből kapott pontos tömeg C₁₇H₁₆N₃O₂⁵⁶Fe [MH]⁺ 350,0592; mért 350,0594.

3. III. 4. 1. h. (*S_p*)-(E)-2-((2-(piridin-2-il)hidrazono)metil)ferrocén-karbonsav-metilészter (110)

A kiindulási (*S_p*)-2-formil-ferrocén-karbonsav-metilésztert (**109**) [0,23 g, 0,85 mmol] és a 2-hidrazinopiridint (**98**) [0,10 g, 0,93 mmol] etanolban [20 ml] 1 óráig forraltattam, bepároltam. DCM-MeOH 40:1 eluenssel történő kromatográfia sötétnarancs port eredményezett (243 mg, 79 %). op. 165-168 °C, IR (ATR, cm⁻¹): 3189, 3146, 3102, 2945, 1706, 1598, 1581, 1469, 1217, 1071, 770, 493, [α]_D²⁵: 23,7° (EtOH *c* = 0,24 g/100 mL). ¹H-NMR (DMSO-d₆): 8,79 (s, 1H, N-H, hidrazon); 8,39 (s, 1H, CH, hidrazon); 8,16 (brd, 1H, *J* = 4,9 Hz, H-6, py); 7,62 (ddd, 1H, *J* = 8,7 Hz, 7,2 Hz, 1,7 Hz, H-4, py); 7,32 (d, 1H, *J* = 8,7 Hz, H-3, py); 6,78 (dd, 1H, *J* = 7,2 Hz, 4,9 Hz, H-5, py); 5,17 (dd, 1H, *J* = 2,6 Hz, 1,6 Hz, H-5, szubszt. Cp); 4,95 (dd, 1H, *J* = 2,6 Hz, 1,6 Hz, H-3, szubszt. Cp); 4,58 (t, 1H, *J* = 2,6 Hz, H-4, szubszt. Cp); 4,25 (s, 5H, szabad Cp); 3,87 (s, 3H, metil); ¹³C-NMR (DMSO-d₆): 172,6 (C=O); 156,9 (C-2, py); 147,3 (C-6, py); 139,6 (CH, hidrazon); 115,6 (C-5, py); 108,1 (C-2, py); 82,5 (C-2, szubszt. Cp); 72,5 (C-3, szubszt. Cp); 71,9 (C-4, szubszt. Cp); 71,4 (CH, szabad Cp); 69,7 (C-5, szubszt. Cp), 69,6 (C-1, szubszt. Cp); 52,1 (CH₃). HRMS-ből kapott pontos tömeg C₁₈H₁₈N₃O₂⁵⁶Fe [MH]⁺ 364,0748; mért 364,0751.

3. III. 4. 2. Általános eljárás a ferrocén-hidrazonok *N*-benzilezéséhez és *p*-xilol-származékok előállításához

A kiindulási hidrazonokat inert atmoszféra alatt forraltattam kiizzított molekulaszitán szárított acetonitrilben vagy acetonban ekvivalens benzil-bromid és kálium-karbonát jelenlétében. A forralás időtartama az alkalmazott vegyületektől függően két-három órától egy éjszakáig terjedt. A termék tisztítása (vegyületenként részletesen tárgyalva) különböző oldószerekkel eldörzsölést-, vagy oszlopkromatográfiát jelentett DCM-MeOH eluenssel, vegyületenként változó eluens-erősséggel (1:0-tól 50:1-ig).

3. III. 4. 2. a. 5,5'-((2*E*,2'*E*)-2,2'-(ferrocén-1,1'-diilbisz(metánililidén))bisz(1-benzilhidrazin-1-il-2-ilidén))bisz(4-bróm-2-metilpiridazin-3(2*H*)-on) (113)

A kiindulási 5,5'-((2*E*,2'*E*)-2,2'-(ferrocén-2,6-diilbisz(metánililidén))bisz(hidrazin-1-il-2-ilidén))bisz(4-bróm-2-metilpiridazin-3(2*H*)-on)-t (**91**) [0,50 g, 0,90 mmol], benzil-bromidot (**111**) [0,31 g, 1,8 mmol], kálium-karbonátot [0,31 g, 1,8 mmol] acetonitrilben [30 ml] forraltattam 2 órán át. A bepárlást vizes eldörzsölést követte, s a szűrés után víz-metanol 1:1 [6 ml] elegyben újra eldörzsöltem, s szűrtem, exsikkátorban szárítottam. A termék sötétbarna por (490 mg, 74 %). op. 223 °C, boml., IR (ATR, cm⁻¹): 3218, 1609, 1532, 1421, 1403, 1108, 813, 737, ¹H-NMR (CDCl₃): 8,09 (s, 2H, H-6, piridazinon); 7,39 (t, 4H, *J* = 7,3 Hz, H-3, H-5, benzil); 7,32 (d, 4H, *J* = 7,3 Hz, H-2, H-6, benzil); 7,30 (t, 2H, *J* = 7,3 Hz, H-4, benzil); 7,26 (s, 2H, CH, hidrazon); 5,18 (s, 4H, CH₂); 4,24 (s, 4H, H-2, H-5, Cp); 4,07 (s, 4H, H-3, H-4, Cp); 3,83 (s, 6H, CH₃); ¹³C-NMR (CDCl₃): 159,2 (C=O, piridazinon); 149,2 (C-5, piridazinon); 140,4 (CH, hidrazon); 135,9 (C-1, benzil); 133,2 (C-6, piridazinon), 129,4 (C-3, C-5, benzil); 128,1 (C-4, benzil); 127,0 (C-2, C-6, benzil); 108,4 (C-4, piridazinon); 81,0 (C-1, Cp); 71,5 (C-3, C-4, Cp); 68,7 (C-2, C-5, Cp); 53,7 (CH₂); 41,2 (CH₃). HRMS-ből kapott pontos tömeg C₃₆H₃₃N₈O₂⁵⁶FeBr₂ [MH]⁺ 823,0443; mért 823,0460; számított C₃₆H₃₂N₈O₂Na⁵⁶FeBr₂ [MNa]⁺ 845,0262; mért 845,0283.

3. III. 4. 2. b. 5,5'-((2*E*,2'*E*)-2,2'-(ferrocén-1,1'-diilbisz(metánililidén))bisz(1-benzilhidrazin-1-il-2-ilidén))bisz(4-klór-2-metilpiridazin-3(2*H*)-on) (112)

A kiindulási 5,5'-((2*E*,2'*E*)-2,2'-(ferrocén-2,6-diilbisz(metánililidén))bisz(hidrazin-1-il-2-ilidén))bisz(4-bróm-2-metilpiridazin-3(2*H*)-on)-t (**90**) [0,50 g, 0,77 mmol], benzil-bromidot (**111**) [0,27 g, 1,6 mmol], kálium-karbonátot [0,21 g, 1,6 mmol] acetonitrilben [30 ml] forraltattam 2 órán át. A bepárlást vizes eldörzsölést követte, s a szűrés után víz-metanol 1:1 [6 ml] elegyben újra eldörzsöltem, s szűrtem, exsikkátorban szárítottam. A termék barna por (531 mg, 14 %). op. 162 °C, boml., IR (ATR, cm⁻¹): 3082, 2944, 1644, 1584, 1414, 1122, 813,

735, 578, ^1H -NMR (CDCl_3): 8,25 (s, 2H, H-6, piridazinon); 7,41 (t, 4H, $J = 7,2$ Hz, H-3, H-5, benzil); 7,37 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, H-4, benzil); 7,33 (d, 4H, $J = 7,2$ Hz, H-2, H-6, benzil); 7,28 (s, 2H, CH, hidrazon); 5,19 (s, 4H, CH_2); 4,25 (s, 4H, H-2, H-5, Cp); 4,10 (s, 4H, H-3, H-4, Cp); 3,83 (s, 6H, CH_3); ^{13}C -NMR (CDCl_3): 158,9 (C=O, piridazinon); 146,4 (C-5, piridazinon); 139,8 (CH, hidrazon); 135,9 (C-1, benzil); 132,8 (C-6, piridazinon); 129,4 (C-3, C-5, benzil); 128,2 (C-4, benzil); 126,7 (C-2, C-6, benzil); 109,9 (C-4, piridazinon); 80,9 (C-1, Cp); 71,5 (C-3, C-4, Cp); 68,7 (C-2, C-5, Cp); 53,3 (CH_2); 41,0 (CH_3). HRMS-ből kapott pontos tömeg $\text{C}_{36}\text{H}_{32}\text{N}_8\text{O}_2\text{NaCl}_2^{56}\text{Fe} [\text{MNa}]^+$ 757,1272; mért 757,1290; számított $\text{C}_{36}\text{H}_{33}\text{N}_8\text{O}_2\text{Cl}_2^{56}\text{Fe} [\text{MH}]^+$ 735,1453; mért 735,1470.

3. III. 4. 2. c. (E)-5-(2-(ferrocen-9-ilmetilén)-1-benzilhidrazinil)-4-klór-2-metilpiridazin-3(2H)-on (114)

A kiindulási (E)-5-(2-(ferrocen-9-ilmetilén)hidrazinil)-4-klór-2-metilpiridazin-3(2H)-ont (**85**) [0,32 g, 0,86 mmol], benzil-bromidot (**111**) [0,15 g, 0,86 mmol], kálium-karbonátot [0,12 g, 0,86 mmol] acetonban [20 ml] forraltattam 2 órán át. A bepárlást víz-metanol 1:1 [8 ml] elegyben történő eldörzsölés követte. A termék barnásvörös por (330 mg, 66 %). op. 149 °C, boml., IR (ATR, cm^{-1}): 3457, 3096, 3059, 3028, 1648, 1421, 1130, 811, 472, ^1H -NMR (CDCl_3): 8,33 (s, 1H, H-6, piridazinon); 7,43 (s, 1H, CH, hidrazon); 7,43 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-3, H-5, benzil, előzővel átfed); 7,39 (d, 2H, $J = 6,8$ Hz, H-2, H-6, benzil); 7,34 (t, 1H, $J = 6,8$ Hz, H-4, benzil); 5,23 (s, 2H, CH_2); 4,50 (s, 2H, H-2, H-5, szubszt. Cp); 4,33 (s, 2H, H-3, H-4, szubszt. Cp); 3,99 (s, 5H, szabad Cp); 3,84 (s, 3H, CH_3); ^{13}C -NMR (CDCl_3): 159,1 (C=O, piridazinon); 146,6 (C-5, piridazinon); 141,1 (CH, hidrazon); 136,1 (C-1, benzil); 133,1 (C-6, piridazinon); 129,3 (C-3, C-5, benzil); 128,1 (C-4, benzil); 126,7 (C-2, C-6, benzil); 115,2 (C-4, piridazinon); 79,9 (C-1, szubszt. Cp); 70,5 (C-3, C-4, szubszt. Cp); 69,5 (CH, szabad Cp); 67,8 (C-2, C-5, szubszt. Cp); 53,4 (CH_2); 40,9 (CH_3). HRMS-ből kapott pontos tömeg $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{OCl}^{56}\text{Fe} [\text{MH}]^+$ 461,0832; mért 461,0833.

3. III. 4. 2. d. (E)-5-(2-(ferrocen-9-ilmetilén)-1-benzilhidrazinil)-4-klór-2-fenilpiridazin-3(2H)-on (116)

A kiindulási (E)-5-(2-(ferrocen-9-ilmetilén)hidrazinil)-4-klór-2-fenilpiridazin-3(2H)-ont (**87**) [0,33 g, 0,77 mmol], benzil-bromidot (**111**) [0,13 g, 0,77 mmol], kálium-karbonátot [0,11 g, 0,77 mmol] acetonban [25 ml] forraltattam 3 órán át. A bepárlást szilikagéles oszlopkromatográfia követte DCM-ben (etanol kellett a felvitelhez). A termék élénkpiros por (248 mg, 62 %). op. 79,5-81,5 °C, IR (ATR, cm^{-1}): 3089, 3024, 2917, 1644, 1584, 1493, 1307, 1119, 820, 692, ^1H -NMR (CDCl_3): 8,52 (s, 1H, H-6, piridazinon); 7,65 (d, 2H, $J = 7,5$ Hz, H-2, H-6, Ph); 7,50-7,33 (átf. m, 8H, H-2..6, benzil, H-3..5, Ph); 7,26 (s, 1H, CH, hidrazon); 5,30 (s, 2H, CH_2); 4,50 (br, 2H, H-2, H-5, szubszt. Cp); 4,32 (br, 2H, H-3, H-4,

szubszt. Cp); 3,98 (s, 5H, szabad Cp); ^{13}C -NMR (CDCl_3): 158,5 (C=O, piridazinon); 146,7 (C-5, piridazinon); 142,0 (C-1, Ph); 141,4 (CH, hidrazon); 136,0 (C-1, benzil); 134,0 (C-6, piridazinon); 129,4 (C-3, C-5, benzil); 129,1 (C-3, C-5, Ph); 128,7 (C-4, Ph); 128,1 (C-4, benzil); 126,7 (C-2, C-6, benzil); 125,6 (C-2, C-6, Ph); 115,2 (C-4, piridazinon); 79,7 (C-1, szubszt. Cp); 70,6 (C-3, C-4, szubszt. Cp); 69,6 (CH, szabad Cp); 67,8 (C-2, C-5, szubszt. Cp); 53,2 (CH_2). HRMS-ből kapott pontos tömeg $\text{C}_{28}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{ONaCl}^{56}\text{Fe} [\text{MNa}]^+$ 545,0807; mért 545,0811.

3. III. 4. 2. e. (*E*)-5-(1-benzil-2-(ferrocenilmetilén)hidrazinil)-2-(4-brómfenil)-4-klór-piridazin-3(2*H*)-on (117)

A kiindulási (*E*)-5-(2-(ferrocenil-metilén)hidrazinil)-2-(4-brómfenil)-4-klórpiridazin-3(2*H*)-on (**88**) [0,20 g, 0,39 mmol], benzil-bromidot (**111**) [0,067 g, 0,39 mmol], kálium-karbonátot [0,054 g, 0,39 mmol] acetonban [10 ml] forraltattam 200 percen át. A bepárlást szilikagéles oszlopkromatográfia követte DCM-ben. A kapott olajhoz étert cseppentve és újra bepárolva narancsszínű port kaptam (198 mg, 62 %). op. 182-184 °C, IR (ATR, cm^{-1}): 3090, 3067, 3027, 2931, 2882, 1648, 1542, 1417, 1121, 816, 685, ^1H -NMR (CDCl_3): 8,54 (s, 1H, H-6, piridazinon); 7,59 (brs, 4H, H-2, H-3, H-5, H-6, BrC_6H_4); 7,46 (s, 1H, C-H, hidrazon); 7,45 (t, 2H, H-3, H-5, benzil, előző jellel részlegesen átfed); 7,39 (d, 2H, H-2, H-6, benzil); 7,34 (t, 1H, H-4, benzil); 5,31 (s, 2H, CH_2); 4,51 (s, 2H, H-2, H-5, szubszt. Cp); 4,34 (s, 2H, H-3, H-4, szubszt. Cp); 3,99 (s, 5H, CH, szabad Cp); ^{13}C -NMR (CDCl_3): 158,3 (C=O, piridazinon); 146,0 (C-5, piridazinon); 141,7 (C-H, hidrazon); 141,0 (C-N, BrC_6H_4); 135,9 (C-1, benzil); 134,2 (C-6, piridazinon); 132,2 (C-2, C-6, BrC_6H_4); 129,4 (C-3, C-5, benzil); 128,2 (C-4, benzil); 127,1 (C-3, C-5, BrC_6H_4); 126,8 (C-2, C-5, benzil); 122,1 (C-1, BrC_6H_4); 114,8 (C-4, piridazinon); 79,7 (C-1, szubszt. Cp); 70,7 (C-3, C-4, szubszt. Cp); 69,6 (CH, szabad Cp); 67,8 (C-2, C-5, szubszt. Cp); 53,2 (CH_2 , benzil). HRMS-ből kapott pontos tömeg $\text{C}_{28}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{OCl}^{56}\text{FeBr} [\text{MH}]^+$ 601,0093; mért 601,0071.

3. III. 4. 2. f. (*E*)-5-(1-benzil-2-(ferrocenilmetilén)hidrazinil)-4-bróm-2-metilpiridazin-3(2*H*)-on (115)

A kiindulási (*E*)-5-(2-(ferrocenil-metilén)hidrazinil)-4-bróm-2-metilpiridazin-3(2*H*)-on (**86**) [0,17 g, 0,42 mmol], benzil-bromidot (**111**) [0,072 g, 0,42 mmol], kálium-karbonátot [0,058 g, 0,42 mmol] acetonban [10 ml] forraltattam egy éjszakáig. A bepárlást oszlopozás követte szilikán DCM-MeOH-ban (50:1). A kapott anyag etanolban nem kristályosodott meg, de etanoltól nedvesen éterrel igen: narancssárga port kaptam (91 mg, 43 %). op. 127,5-131,5 °C, IR (ATR, cm^{-1}): 3094, 3031, 2997, 2942, 1642, 1583, 1421, 1123, 809, 736, ^1H -NMR (CDCl_3): 8,15 (s, 1H, H-6, piridazinon); 7,42 (t, 2H, H-3, H-5, benzil, $J = 7,3$ Hz); 7,41

(s, 1H, CH, hidrazon, előzővel átfed); 7,37 (d, 2H, H-2, H-6, benzil, $J = 7,3$ Hz); 7,32 (t, 1H, H-4, benzil, $J = 7,3$ Hz); 5,21 (s, 2H, CH₂, benzil); 4,49 (s, 2H, H-2, H-5, szubszt. Cp); 4,31 (s, 2H, H-3, H-4, szubszt. Cp); 3,98 (s, 5H, szabad Cp); 3,83 (s, 3H, metil); ¹³C-NMR (CDCl₃): 159,2 (C=O, piridazinon); 149,5 (C-5, piridazinon); 141,6, (C-H, hidrazon); 136,1 (C-1, benzil); 133,4 (C-6, piridazinon); 129,2 (C-3, C-5, benzil); 128,1 (C-4, benzil); 127,0 (C-2, C-6, benzil); 108,3 (C-4, piridazinon); 79,9 (C-1, szubszt. Cp.); 70,5 (C-3, C-4, szubszt. Cp); 69,6 (CH, szabad Cp); 67,7 (C-2, C-5, szubszt. Cp); 53,8 (CH₂); 41,2 (CH₃). HRMS-ből kapott pontos tömeg C₂₃H₂₂N₄O⁵⁶FeBr [MH]⁺ 505,0326; mért 505,0318.

3. III. 4. 2. g. 5,5'-((2*E*,2'*E*)-1,1'-(1,4-fenilénbisz(metilén))bisz(2-(ferrocenilmetilén)hidrazin-1,1-diil))bisz(4-klór-2-fenilpiridazin-3(2*H*)-on) (118)

A kiindulási (E)-5-(2-(ferrocenil-metilén)hidrazinil)-4-klór-2-fenilpiridazin-3(2*H*)-on (**116**) [0,25 g, 0,58 mmol], 1,4-bisz(brómmetil)benzolt [0,076 g, 0,29 mmol], kálium-karbonátot [0,08 g, 0,58 mmol] acetonban [15 ml] forraltattam 24 órán át. A bepárlás szilikapadon történő áthúzás követte DCM-MeOH-ban (10:1), majd újabb bepárlás után oszloposítás DCM-MeOH (50:1)-ben. Bepárlás után piros port kaptam (199 mg, 71 %). op. 202 °C boml., IR (ATR, cm⁻¹): 3081, 1620, 1607, 1584, 1412, 1118, 820, 723, 692, ¹H-NMR (CDCl₃): 8,50 (s, 2H, H-6, piridazinon); 7,63 (d, 4H, $J = 7,8$ Hz, H-2, H-6, Ph); 7,47 (átfedő m, 10H, CH, hidrazon, H-2, H-3, H-5, H-6, xilol, H-3, H-5, Ph); 7,38 (t, 2H, $J = 7,8$ Hz, H-4, Ph); 5,30 (s, 4H, CH₂); 4,57 (s, 4H, H-2, H-5, szubszt. Cp); 4,39 (s, 4H, H-3, H-4, szubszt. Cp); 4,06 (s, 10H, szabad Cp); ¹³C-NMR (CDCl₃): 158,4 (C=O, piridazinon); 146,0 (C-5, piridazinon); 142,0 (C-1, Ph); 141,7 (C-H, hidrazon); 135,7 (C-1, C-4, xilol); 133,9 (C-6, piridazinon); 129,1 (C-3, C-5, Ph); 128,5 (C-4, Ph); 127,4 (C-2, C-3, C-5, C-6, xilol); 125,6 (C-2, C-6, Ph); 115,4 (C-4, piridazinon); 80,3 (C-1, szubszt. Cp); 71,4 (C-3, C-4, szubszt. Cp); 70,2 (CH, szabad Cp); 68,4 (C-2, C-5, szubszt. Cp); 53,3 (CH₂). HRMS-ből kapott pontos tömeg C₅₀H₄₁N₈O₂Cl₂⁵⁶Fe₂ [MH]⁺ 967,1428; mért 967,1446.

3. III. 4. 2. h. 5,5'-((2*E*,2'*E*)-1,1'-(1,4-fenilénbisz(metilén))bisz(2-(ferrocenilmetilén)-hidrazin-1,1-diil))bisz(2-(4-brómfenil)-4-klórpipridazin-3(2*H*)-on) (119)

A kiindulási (E)-5-(2-(ferrocenil-metilén)hidrazinil)-2-(4-brómfenil)-4-klórpipridazin-3(2*H*)-on (**117**) [0,15 g, 0,29 mmol], 1,4-bisz(brómmetil)benzolt [0,039 g, 0,15 mmol], kálium-karbonátot [0,04 g, 0,29 mmol] acetonban [15 ml] forraltattam 4 órán át. A bepárlást oszloposítás követte DCM-MeOH-ban (30:1), majd újabb bepárlás, s átkristályosítás éterből (3 Pasteur-pipettányi). Vörös port kaptam (113 mg, 69 %). op. 224 °C boml., IR (ATR, cm⁻¹): 3083, 2925, 1643, 1609, 1479, 1305, 1112, 819, 607, ¹H-NMR (CDCl₃): 8,51 (s, 2H, H-6,

piridazinon); 7,59 (AA'XX', 4H, $J = 8,6$ Hz, H-2 és H-6 BrC₆H₄); 7,56 (AA'XX', 4H, $J = 8,6$ Hz, H-3 és H-5 BrC₆H₄); 7,45 (átfedő, 6H, hidrazon CH és xilol CH); 5,31 (s, 4H, N-CH₂); 4,51 (brs, 4H, H-2 és H-5, szubszt. Cp); 4,35 (brs, 4H, H-3 és H-4, szubszt. Cp); 4,02 (brs, 10H, szabad Cp-k); ¹³C-NMR (CDCl₃): 158,4 (C=O, piridazinon); 146,1 (C-N, piridazinon); 141,8 (C-H, hidrazon); 141,0 (C-N, BrC₆H₄); 135,7 (C-C, xilol); 134,1 (C-H, piridazinon); 132,2 (C-H, BrC₆H₄); 127,4 (C-H, xilol); 127,1 (C-H, BrC₆H₄); 122,1 (C-Br, BrC₆H₄); 79,5 (C-1, szubszt. Cp); 70,9 (C-3 és C-4, szubszt. Cp); 69,8 (C, szabad Cp-n); 68,0 (C-2 és C-5, szubszt. Cp); 5,31 (CH₂, xilol). HRMS-ből kapott pontos tömeg C₅₀H₃₉N₈O₂Cl₂⁵⁶Fe₂Br₂ [MH]⁺ 1122,9639; mért 1122,9634.

3. III. 4. 3. Általános eljárás a ferrocénnel kondenzált piridazinonok előállításához

A kiindulási 2-hidrazon-ferrocén-karbonsavakat absz. THF-ban, inert atmoszféra alatt forraltattam 3 ekvivalens karbonildiimidazol és katalitikus mennyiségű ammónium-klorid jelenlétében. A forralás időtartama egy-két napig terjedt. A termék feldolgozása 20 perc ~ 10 ml metanolos kevertetéssel kezdődött a még aktív karbonilcsoportok kvencseléséhez, majd szilikagéles oszlopkromatográfiával folytatódott (DCM-MeOH eluens, vegyületenként változó eluens-erősséggel 40:1-től 10:1-ig).

3. III. 4. 3. a. (*S_p*)-6-(1-(4-brómfenil)-5-klór-6-oxo-1,6-dihidropiridazin-4-il)piridazino[4,5-a]ferrocén-5(6H)-on (106)

A kiindulási (*S_p*)-(E)-2-((2-(1-(4-brómfenil)-5-klór-6-oxo-1,6-dihidropiridazin-4-il)-hidrazono)metil)ferrocén-karbonsavat (**95**) [0,20 g, 0,36 mmol] és a karbonildiimidazolt [0,17 g, 1,1 mmol] katalitikus mennyiségű ammónium-kloriddal forraltattam absz. THF-ben [5 ml] 2 napon át (ezalatt erősen betöményedett). A metanolos feldolgozás és bepárlás után gradiens elúció következett szilikán DCM-MeOH elegyben (30→10:1). A kapott olaj éteres eldörzsöléssel narancssárga poralakba volt hozható (40 mg, 21 %). op. 195 °C, boml. IR (ATR, cm⁻¹): 3080, 1695, 1671, 1486, 1321, 817, 807, 478, 456, [α]_D²⁵: -23,4° (EtOH:DCM 1:1 $c = 0,18$ g/100 mL). ¹H-NMR (CDCl₃): 8,33 (s, 1H, H-4, kondenzált piridazinon); 8,04 (s, 1H, H-4, szabad piridazinon); 7,64 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, H-2, H-6, BrC₆H₄), 7,60 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, H-3, H-5, BrC₆H₄), 5,41 (brd, 1H, $J = 2,5$ Hz, H-7 kondenzált Cp); 5,00 (dd, 1H, $J = 2,5$ Hz, 1,2 Hz, H-5, kondenzált Cp); 4,71 (t, 1H; $J = 2,5$ Hz, H-6, kondenzált Cp); 4,02 (s, 5H, szabad Cp); ¹³C-NMR (CDCl₃): 165,2 (C=O, kondenzált piridazinon); 157,7 (C=O, szabad piridazinon); 143,9 (C-4, kondenzált piridazinon); 141,2 (C-5, szabad piridazinon); 140,7 (C-4, BrC₆H₄); 137,1 (C-6, szabad piridazinon); 133,8 (C-4, szabad piridazinon); 132,4 (C-2, C-6, BrC₆H₄); 127,3 (C-3, C-5, BrC₆H₄); 77,7 (C-4a, kondenzált Cp); 75,1 (C-6,

kondenzált Cp); 73,2 (C-7a, kondenzált Cp); 71,2 (CH, szabad Cp); 68,6 (C-7, kondenzált Cp); 67,6 (C-5, kondenzált Cp); ^{15}N -NMR (CDCl_3): 330 (N-1, szabad piridazinon); 315 (N-3, kondenzált piridazinon); 211 (N-2, szabad piridazinon); 182 (N-2, kondenzált piridazinon). HRMS-ből kapott pontos tömeg $\text{C}_{22}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}_2\text{Cl}^{56}\text{FeBr}$ $[\text{MH}]^+$ 536,9416; mért 536,9429; számított $\text{C}_{223}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2\text{NaCl}^{56}\text{FeBr}$ $[\text{MNa}]^+$ 558,9236; mért 558,9251.

3. III. 4. 3. b. (S_p)-6-fenilpiridazino[4,5-a]ferrocén-5(6*H*)-on (104)

A kiindulási (S_p)-(*E*)-2-((2-fenilhidrazono)metil)ferrocén-karbonsavat (**102**) [0,42 g, 1,2 mmol] és a karbonildiimidazolt [0,60 g, 3,7 mmol] katalitikus mennyiségű ammónium-kloriddal forraltattam absz. THF-ben [20 ml] 20 órán át, majd 2 ml metanollal kvencseltem. Ezt bepárlás és oszlopkromatográfia követte szilikán DCM-MeOH elegyben (40:1). A kapott termék szilárd, sötétbarna anyag lett DCM-ből újrabepárolva (104 mg, 25 %). op. 143-146 °C, IR (ATR, cm^{-1}): 1667, 1593, 1574, 1298, 1141, 1070, 760, 693, 474, 462, $[\alpha]_D^{25}$: $-25,2^\circ$ (EtOH $c = 0,41$ g/100 mL). ^1H -NMR (CDCl_3): 8,23 (d, 1H, $J = 0,7$ Hz, H-4, piridazinon); 7,61 (d, 2H, $J = 7,5$ Hz, H-2, H-6, Ph); 7,47 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz, H-3, H-5, Ph); 7,34 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, H-4, Ph); 5,36 (brddd, 1H, $J = 2,5$ Hz, 1,2 Hz, 0,7 Hz, H-7, kondenzált Cp); 4,90 (dd, 1H, $J = 2,5$ Hz, 1,2 Hz, H-5, kondenzált Cp); 4,57 (t, 1H, $J = 2,5$ Hz, H-6, kondenzált Cp); 4,22 (s, 5H, szabad Cp); ^{13}C -NMR (CDCl_3): 166,1 (C=O, kondenzált piridazinon); 142,9 (C-1, Ph); 141,5 (C-4, kondenzált piridazinon); 129,1 (C-3, C-5, Ph); 127,5 (C-4, Ph); 126,3 (C-2, C-6, Ph); 74,3 (C-6, kondenzált Cp); 70,8 (CH, szabad Cp); 67,9 (C-7, kondenzált Cp); 66,3 (C-5, kondenzált Cp). HRMS-ből kapott pontos tömeg $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}^{56}\text{Fe}$ $[\text{MH}]^+$ 331,0534; mért 331,0537.

3. III. 4. 3. c. (S_p)-6-(3-brómfenil)piridazino[4,5-a]ferrocén-5(6*H*)-on (105)

A kiindulási (S_p)-(*E*)-2-((2-(3-brómfenil)hidrazono)metil)ferrocén-karbonsavat (**103**) [0,52 g, 1,2 mmol] és a karbonildiimidazolt [0,59 g, 3,6 mmol] katalitikus mennyiségű ammónium-kloriddal forraltattam absz. THF-ben [20 ml] 20 órán át, majd 2 ml metanollal kvencseltem. Ezt bepárlás és oszlopkromatográfia követte szilikán DCM-MeOH elegyben (43:1). A kapott olajos termék idővel beszilárdult, gócpontokban lassan kristályosodott (133 mg, 27 %). op. 126-128 °C IR (ATR, cm^{-1}): 3090, 1665, 1583, 1472, 1442, 1291, 1106, 777, 691, 465, $[\alpha]_D^{25}$: $-20,9^\circ$ (EtOH $c = 0,16$ g/100 mL). ^1H -NMR (CDCl_3): 8,24 (d, 1H, $J = 0,7$ Hz, H-4, piridazinon); 7,81 (t, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-2, BrC_6H_4); 7,61 (ddd, 1H, $J = 8,0$ Hz, 1,9 Hz, 0,9 Hz, H-4, BrC_6H_4); 7,47 (ddd, 1H, $J = 8,0$ Hz, 1,9 Hz, 0,9 Hz, H-6, BrC_6H_4); 7,33 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-5, BrC_6H_4); 5,37 (ddd, 1H, $J = 2,5$ Hz, 1,2 Hz, 0,7 Hz, H-7, kondenzált Cp); 4,92 (dd, 1H, $J = 2,5$ Hz, 1,2 Hz, H-5, kondenzált Cp); 4,59 (t, 1H, $J = 2,5$ Hz, H-6,

kondenzált Cp); 4,22 (s, 5H, szabad Cp); ^{13}C -NMR (CDCl_3): 166,0 (C=O, piridazinon); 143,7 (C-3, BrC_6H_4); 142,1 (C-4, piridazinon); 130,4 (C-6, BrC_6H_4); 130,2 (C-5, BrC_6H_4); 129,2 (C-2, BrC_6H_4); 124,8 (C-4, BrC_6H_4); 122,4 (C-1, BrC_6H_4); 78,3 (C-4a, kondenzált Cp); 74,6 (C-6, kondenzált Cp); 74,4 (C-7a, kondenzált Cp); 70,8 (CH, szabad Cp); 68,1 (C-7, kondenzált Cp); 66,6 (C-5, kondenzált Cp). HRMS-ből kapott pontos tömeg $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}^{56}\text{FeBr} [\text{MH}]^+$ 408,9639; mért 408,9647.

3. III. 4. 3. d. (S_p)-(E)-2-((2-(1-(4-brómfenil)-5-klór-6-oxo-1,6-dihidropiridazin-4-il)-hidrazono)metil)ferrocén-karbonsav-metilészter (107)

A kiindulási (S_p)-(E)-2-((2-(1-(4-brómfenil)-5-klór-6-oxo-1,6-dihidropiridazin-4-il)-hidrazono)metil)ferrocén-karbonsavból [0,20 g, 0,36 mmol] kiinduló reakció során a 4. III. 2. 3. a.-fejezetben ismertetettől annyiban tértem el, hogy 6 ekvivalens karbonildiimidazolt [0,35 g, 2,16 mmol], 10 ml THF-et és 48 mg ammónium-kloridot alkalmaztam, a forralás 1 napig ment. Az izolált metilészter főtermék narancsszínű por [102 mg, 50 %]. op. 180 °C, boml. IR (ATR, cm^{-1}): 3098, 3012, 2959, 1718, 1602, 1425, 1220, 1083, 1004, 809, 475, 460, $[\alpha]_D^{25}$: 11,6° (EtOH $c = 0,22 \text{ g}/100 \text{ mL}$). ^1H -NMR (DMSO-d_6): 11,02 (s, 1H, NH, hidrazon); 8,95 (s, 1H, CH, hidrazon); 8,55 (s, 1H, H-6, piridazinon); 7,71 (d, 2H, $J = 8,6 \text{ Hz}$, H-2, H-6, BrC_6H_4); 7,56 (d, 2H, $J = 8,6 \text{ Hz}$, H-3, H-5); 5,26 (br, 1H, H-3, szubszt. Cp); 5,00 (dd, 1H, $J = 2,5 \text{ Hz}$, 1,6 Hz, H-5, szubszt. Cp); 4,76 (t, 1H, $J = 2,5 \text{ Hz}$, H-4, szubszt. Cp); 4,33 (CH, szabad. Cp); 3,83 (s, 3H, CH_3); ^{13}C -NMR (DMSO-d_6): 172,2 (COOMe); 157,5 (C=O, piridazinon); 146,9 (CH, piridazinon); 142,3 (C-5, piridazinon); 141,7 (C-4, BrC_6H_4); 132,4 (C-2, C-6, BrC_6H_4); 129,6 (C-6, piridazinon); 128,6 (C-3, C-5, BrC_6H_4); 121,7 (C-1, BrC_6H_4); 104,5 (C-4, piridazinon); 81,3 (C-2, szubszt. Cp); 73,4 (C-5, szubszt. Cp); 73,1 (C-4, szubszt. Cp); 71,8 (CH, szabad Cp); 70,8 (C-1, szubszt. Cp); 70,2 (C-3, szubszt. Cp); 52,8 (CH_3). ^{15}N -NMR (DMSO-d_6): 333 (N-1, piridazinon); 310 (N=C, hidrazon); 204 (N-2, piridazinon); 146 (NH, hidrazon). HRMS-ből kapott pontos tömeg $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_4\text{O}_3\text{Cl}^{56}\text{FeBr} [\text{MH}]^+$ 568,9678; mért 568,9684.

4. Összefoglalás és kitekintés

A doktori képzésem ideje alatt számos témában dolgoztam, ezek közül három, sikeres munka eredményeit mutatom be dolgozatomban. Csoportomban a ferrocénvegyületek kémiájával már régóta foglalkoznak, saját munkámban közvetlen alkalmazást nyernek az előállított vegyületek – két biokémiai kutatócsoporttal együttműködve rákos sejtvonalakon történtek kutatások. A témában kevésbé jártas érdeklődő is könnyen megértheti az amúgy kifejezetten „alapkutatás-gyanús” munka fontosságát. Eredményeim természetesen nem csak az „enyémek”, egy kisebb kutatócsapat munkája, így a dolgozatomban ahol csak lehetett, kiemeltem az együttműködés fontosságát, s kifejezem köszönetemet a segítségért.

1. Az első vázolt kutatási irányban hét új, többségében ferrocént is tartalmazó cinkonavegyület előállítását, szerkezeti- és biológiai vizsgálatát közlöm. Több molekula igen aktívnak mutatkozott rákos sejtvonalakon, s így ez, ha nem is „lead”, de mindenképpen „hit” szintű információ gyógyszerkémiai szemmel. Az eredményeket publikáltuk⁷¹, s a sikerek arra sarkalltak minket, hogy további kutatási irányokat indítson a csoportunk hasonló bioaktív molekulák előállítására.

2. Második bemutatott témám alkalmazott elméleti-kémiai kutatás, melyben a cinkona-alapú organokatalízis egy reakciójának mélyebb megértését, s az új ismeretek katalizátor-fejlesztésbeli felhasználását tűztem ki célul⁷². Az elvégzett számítások többféle tanulsággal is szolgáltak. Ezek alapján egy új katalizátor szintézisét hajtottam végre. Bár a kapott anyag a választott modellreakcióban nem tudott a már piacon beszerezhető analógoknál jobb fizikai kémiai paraméterekkel szolgálni, ugyanakkor egy új, érdekes szerkezetű királis termék szintézisére alkalmas.

3. Harmadik munkámban ugyancsak biokémiai témát mutatok be: 20 új, piridazinont és ferrocént együtt tartalmazó vegyület szintézisét és rákos sejtvonalakon mutatott hatását ismertetem. A biokémiai alkalmazás mellett témám újdonságát adja néhány, planárisan királis, ferrocénnel kondenzált piridazinon újszerű előállítása. Ebben a vegyületkörben a csoportunk érte el az első eredményeket, amikhez munkámmal érdemben hozzájárulhattam.

5. Summary

During my PhD. studies I have worked on several research projects, among these I review the achievements of three, successful topics. In my research group the chemistry of ferrocene compounds has been professed for a long while. During my work the prepared compounds had been directly applied in practice – in collaborations with two biochemical research groups they had been used against tumor cell lines. Due to this the interested one not familiar with the research may understand the importance of a doubtfully basic research. Certainly, the results are not just my own “properties”, they are results of a smaller research team and so wherever it is possible I highlighted the importance of the teamwork in the paper and denote my acknowledgement for the help.

1. In the first mentioned research theme I review the preparation, structural- and biological inspection of seven novel cinchona based compounds (four of them contain ferrocene). Some of these molecules were sizeable active against tumor cell lines, so it is at least hit-type information even if they can not be used as lead structures in the medicinal chemical approach. The results had been published⁷¹, and they prompted us to initiate further research directions to prepare similar bioactive molecules.

2. My second reviewed topic is an applied theoretical chemistry research wherein I appointed to understand thoughtfully an organocatalytic reaction and to apply the newly acquired knowledge in the innovation of a catalyst⁷². The performed calculations were so instructive to help in the design and synthesis of a new catalyst. Although in the chosen model reaction the new compound was not able to outstrip the commercial catalysts, it is useable in the synthesis of a novel chiral product with an interesting structure.

3. In my third research topic I introduce a biochemical project again: synthesis and antitumor effect of twenty novel, ferrocene- and pyridazinone containing compounds are discussed. Among the applicability in the field of biochemistry the novelty of work is the patent synthesis of a few planar chiral ferroceno-condensed pyridazinons. In this research field our group has reached the first achievements which I could replenish by my work.

6. Köszönetnyilvánítás

Doktori tanulmányaim alatt végzett kutatómunkám sikeréhez alapvetően hozzájárultak témavezetőként Csámpai Antal és Sohár Pál tanár urak. Tőlük munkám során rengeteg bizalmat, szakmai segítséget és motivációt kaptam, amiért köszönettel tartozom nekik.

Kutatócsoportunk több tagja is sokat segített az elmúlt három év során, köszönöm ezt Csókás Dánielnek, Emődi Veronikának, Fodor Kingának, Gyömöre Ádámnak, Kiss Kolosnak, Kocsis Lászlónak és Kovács Zoltánnak.

A Szervetlen Kémia Tanszék több dolgozójának is köszönettel tartozok: Pasinszki Tibor, Rohonczy János, Szepes László, Tarczay György is megosztották velem vegyszerüket és eszközeiket.

Az együttműködés lehetőségét köszönöm Bösze Szilviának, Czugler Mátyásnak, Drahos Lászlónak, Fábián Attilának, Gál Emesének, Holczbauer Tamásnak, Orbán Erikának, Palló Annának, Varga Szilárdnak, Zupkó Jánosnak.

És végezetül, de nem utolsó sorban köszönöm családomnak, hogy utamon elkísértek és támogattak – nélkülük mindez sokkal hosszabb, nehezebb lett volna.

7. Hivatkozások

- ¹ a, Ding, Y.; Bao, Y.; An, L. Progress in antitumor agents, vinblastine analogues. *Zhongguo Yiyao Gongye Zazhi* **2005**, *36*, 424–428;
b, Gao, H. Research status of antitumor drug camptothecin and its derivatives. *Hebei Yiyao* **2008**, *30*, 1786–1788;
c, Prudhomme, M. Staurosporines and structurally related indolocarbazoles as antitumor agents. *Anticancer Agents Nat. Prod.* **2005**, 499–517;
d, Ohashi, M.; Oki, T. Ellipticine and related anticancer agents. *Expert Opin. Ther. Pat.* **1996**, *6*, 1285–1294.
- ² Kaur, K.; Jain, M.; Reddy, R.P.; Jain, R. Quinolines and structurally related heterocycles as antimalarials. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 3245–3264.
- ³ Wolf, R.; Baroni, A.; Greco, R.; Donnarumma, G.; Ruocco, E.; Tufano, M.A.; Ruocco, V. Quinine sulfate and bacterial invasion. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* **2002**, 1–5.
- ⁴ a, Kelsey, F.E.; Brunschwig, A. Concentration of quinine in gastrointestinal cancers; preliminary report. *Cancer Res.* **1947**, *7*, 355–356;
b, Kim, J.; Lee, K.; Jung, W.; Lee, O.; Kim, T.; Kim, H.; Lee, J.; Passaro, D.J. Validity of serum pepsinogen levels and quininium resin test combined for gastric cancer screening. *Cancer Detect. Prev.* **2005**, *29*, 570–575.
- ⁵ a, Lehnert, M.; Dalton, W.S.; Roe, D.; Emerson, S.; Salmon, S.E. Synergistic inhibition by verapamil and quinine of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in a human myeloma cell line model. *Blood* **1991**, *77*, 348–354;
b, Taylor, C.W.; Dalton, W.S.; Mosley, K.; Dorr, R.T.; Salmon, S.E. Combination chemotherapy with cyclophosphamide, vincristine, adriamycin, and dexamethasone (CVAD) plus oral quinine and verapamil in patients with advanced breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* **1997**, *42*, 7–14;
c, Genne, P.; Dimanche-Boitrel, M.T.; Mauvernay, R.Y.; Gutierrez, G.; Duchamp, O.; Petit, J.M.; Martin, F.; Chauffert, B. Cinchonine, a potent efflux inhibitor to circumvent anthracycline resistance *in vivo*. *Cancer Res.* **1992**, *52*, 2797–2801;
d, Baraniak, D.; Kacprzak, K.; Celewicz, L. Synthesis of 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT) cinchona alkaloid conjugates via click chemistry: Toward novel fluorescent markers and cytostatic agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 723–726.
e, Sohue, N. Quinine derivatives and the transplantable tumor. III. The effect of quinine derivatives upon the growth rate of Fujinawa's rat sarcoma in the tissue culture. *Folia Pharm. Jpn.* **1941**, *31*, 1–7.
f, Sakai, S.; Minoda, K.; Saito, G.; Akagi, S.; Ueno, A.; Fukuoka, F. The anticancer action of quinoline derivatives. *Gann* **1955**, *46*, 605–616.
- ⁶ a, Fiorina, V.J.; Dubois, R.J.; Brynes, S. Ferrocenyl polyamines as agents for the chemoimmunotherapy of cancer. *J. Med. Chem.* **1978**, *21*, 393–395;
b, Koepf-Maier, P.; Koepf, H.; Neuse, E.W. Ferrocenium salts—The first antitumor iron compounds. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1984**, *96*, 446–447;
c, Neuse, E.W.; Kanzawa, F. Evaluation of the activity of some water-soluble ferrocene and ferrocenium compounds against carcinoma of the lung by the human tumor clonogenic assay. *Appl. Org.-Met. Chem.* **1990**, *4*, 19–26;
d, Snegur, L.V.; Nekrasov, S.; Yu., Gumenyuk, V.V.; Zhilina, Z.V.; Morozova, N.B.; Skviridova, I.K.; Rodina, I.A.; Sergeeva, N.S.; Shchitkov, K.G.; *et al.* Ferrocenylalkylazoles,

- a new class of lowtoxicity compounds with antitumor activity. *Rossiiskii Khim. Zhurn.* **1998**, *42*, 178–183;
- e, Osella, D.; Ferrali, M.; Zanello, P.; Laschi, F.; Fontani, M.; Nervi, C.; Cavigiolio, G. On the mechanism of the antitumor activity of ferrocenium derivative. *Inorg. Chim. Acta* **2000**, *306*, 42–48;
- f, Gormen, M.; Pigeon, P.; Top, S.; Vessieres, A.; Plamont, M.A.; Hillard, E.A.; Jaouen, G. Facile synthesis and strong antiproliferative activity of disubstituted diphenylmethylidenyl-[3]ferrocenophanes on breast and prostate cancer cell lines. *Med. Chem. Commun.* **2010**, *1*, 149–151;
- g, Monserrat, J.P.; Chabot, G.G.; Hamon, L.; Quentin, L.; Scherman, D.; Jaouen, G.; Hillard, E.A. Synthesis of cytotoxic ferrocenyl flavones via a ferricenium-mediated 1,6-oxidative cyclization. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 5145–5147.
- ⁷ Hillard, E.A.; Vessieres, A.; Thouin, L.; Jaouen, G.; Amatore, C. Ferrocene-mediated protoncoupled electron transfer in a series of ferrocifen -type breast-cancer drug candidates. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 285–290.
- ⁸ Top, S.; Dauer, B.; Vaissermann, J.; Jaouen, G. Facile route to ferrocifen, 1-[4-(2-dimethylaminoethoxy)phenyl]-1-phenyl-2-ferrocenyl-but-1-ene, first organometallic analog of tamoxifen, by the McMurry reaction. *J. Organomet. Chem.* **1997**, *541*(1-2), 355-361.
- ⁹ Pigeon, P.; Top, S.; Vessieres, A.; Huche, M.; Goermen, M.; El Arbi, M.; Plamont, M. A.; McGlinchey, M. J.; Jaouen, G. A new series of ferrocifen derivatives, bearing two aminoalkyl chains, with strong antiproliferative effects on breast cancer cells. *New J. Chem.* **2011**, *35*(10), 2212-2218.
- ¹⁰ Top, S.; Vessieres, A.; Cabestaing, C.; Laios, I.; Leclercq, G.; Provot, C.; Jaouen, G. Studies on organometallic selective estrogen receptor modulators. (SERMs) Dual activity in the hydroxy-ferrocifen series. *J. Organomet. Chem.* **2001**, *637-639*, 500-506.
- ¹¹ a, Brocard, J.; Lebibi, J.; Maciejewski, L. Preparation of antimalarial organometallic iron complexes. *PCT Int. Appl.* **1996**, WO 9635698 A1 19961114;
- b, Biot, C.; Dive, D. A new hope against malaria: the contribution of organometallic chemistry. *Actual. Chim.* **2011**, 353-354, 93-96.
- ¹² Dubar, F.; Bohic, S.; Dive, D.; Guerardel, Y.; Cloetens, P.; Khalife, J.; Biot, C. Deciphering the Resistance-Counteracting Functions of Ferroquine in Plasmodium falciparum-Infected Erythrocytes. *Med. Chem. Lett.* **2012**, *3*(6), 480-483.
- ¹³ Li, H.; Lv, P.; Yan, T.; Zhu, H. Urea derivatives as anticancer agents. *Anticancer Agents Med. Chem.* **2009**, *9*, 471–480.
- ¹⁴ Jordan, A., M.; Khan, T., H.; Malkin, H.; Osborn, H., M., I. Synthesis and analysis of urea and carbamate prodrugs as candidates for melanocyte-directed enzyme prodrug therapy (MDEPT). *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 2625-2633.
- ¹⁵ Ma, Z.; Saluta, G.; Kucera, G.L.; Bierbach, U. Effect of linkage geometry on biological activity in thiourea and guanidine-substituted acridines and platinum-acridines. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 3799–3801.
- ¹⁶ a, Cesarini, S.; Spallarossa, A.; Ranise, A.; Schenone, S.; Rosano, C.; La Colla, P.; Sanna, G.; Busonera, B.; Loddo, R. *N*-Acylated and *N,N'*-diacylated imidazolidine-2-thione derivatives and *N,N'*-diacylated tetrahydropyrimidine-2(1*H*)-thione analogues: Synthesis and antiproliferative activity. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 1106–1118;

- b, Rao, X.; Wu, Y.; Song, Z.; Shang, S.; Wang, Z. Synthesis and antitumor activities of unsymmetrically disubstituted acylthioureas fused with hydrophenanthrene structure. *Med. Chem. Res.* **2011**, *20*, 333–338.
- ¹⁷ a, Suda, Y.; Egami, K.; Fujita, H. Preparation of acylthiourea compounds as c-Met kinase inhibitors. *PCT Int. Appl.* **2009**, 79.
b, Ruat, M.; Faure, H.; Traiffort, E.; Schoenfelder, A.; Mann, A.; Taddei, M.; Solinas, A.; Manetti, F. Preparation of aromatic *N*-acylthiourea and *N*-acylurea as inhibitors of the Hedgehog protein signalling pathway for the treatment of cancer, neurodegenerative diseases and diabetes. *Fr. Demande* **2009**, 57.
- ¹⁸ a, Garcia-Martin, F.; Cruz, L.J.; Rodriguez-Mias, R.A.; Giralt, E.; Albericio, F. Design and synthesis of FAJANU: A de Novo C2 symmetric cyclopeptide family. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 3194–3202;
b, Manna, C.M.; Tshuva, E.Y. Markedly different cytotoxicity of the two enantiomers of C2-symmetrical Ti(IV) phenolato complexes; mechanistic implications. *Dalton T.* **2010**, 39, 1182–1184;
c, Rabouin, D.; Perron, V.; N'Zemba, B.C.; Gaudreault, R.; Berube, G. A facile synthesis of C2-symmetric 17 β -estradiol dimers. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 557–560.
- ¹⁹ a, Raynes, K.; Galatis, D.; Cowman, A.F.; Tilley, L.; Deady, L.W. Synthesis and activity of some antimalarial bisquinolines. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 204–206;
b, Ayad, F.; Tilley, L.; Deady, L.W. Synthesis, antimalarial activity and inhibition of haem detoxification of novel bisquinolines. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2075–2077;
c, Cowman, A.F.; Deady, L.W.; Deharo, E.; Desneves, J.; Tilley, L. Synthesis and activity of some antimalarial bisquinolinemethanols. *Aust. J. Chem.* **1997**, *50*, 1091–1096.
- ²⁰ Hiemstra, H.; Wynberg, H. Addition of aromatic thiols to conjugated cycloalkenones, catalyzed by chiral β -hydroxy amines. A mechanistic study of homogeneous catalytic asymmetric synthesis. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*(2), 417–30.
- ²¹ a, Marcelli, T.; Hiemstra, H. Cinchona alkaloids in asymmetric organocatalysis. *Synthesis* **2010**, 8, 1229–1279;
b, Dalaigh, C.O.; Cinchona alkaloid derivatives as chiral organocatalysts. *Synlett* **2005**, 5, 875–876.
- ²² Connon, S.J. Asymmetric catalysis with bifunctional cinchona alkaloid-based urea and thiourea organocatalysts. *Chem. Comm.* **2008**, 22, 2499–2510.
- ²³ Hoffmann, H.R.M.; Frackenpohl, J. Recent advances in Cinchona alkaloid chemistry. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, *21*, 4293–4312.
- ²⁴ Curran, D.P.; Kuo, L.H. Altering the Stereochemistry of Allylation Reactions of Cyclic α -Sulfinyl Radicals with Diarylureas. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*(12), 3259–61.
- ²⁵ Etter, M.C.; Panunto, T. W. 1,3-Bis(m-nitrophenyl)urea: an exceptionally good complexing agent for proton acceptors. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*(17), 5896–5897.
- ²⁶ Schreiner, P.R. Metal-free organocatalysis through explicit hydrogen bonding interactions. *Chem. Soc. Rev.* **2003**, *32*(5), 289–296.
- ²⁷ Schreiner, P.R.; Wittkopp, A. H-Bonding Additives Act Like Lewis Acid Catalysts. *Org. Lett.* **2002**, *4*(2), 217–20.

- ²⁸ Wittkopp, A.; Schreiner, P.R. Metal-free, noncovalent catalysis of Diels-Alder reactions by neutral hydrogen bond donors in organic solvents and in water. *Chem. Eur. J.* **2003**, 9(2), 407-414.
- ²⁹ a, Vakulya, B.; Varga, Sz.; Csampai, A.; Soos, T. Highly enantioselective conjugate addition of nitromethane to chalcones using bifunctional cinchona organocatalysts. *Org. Lett.* **2005**, 7(10), 1967-1969;
b, Li, B.J.; Jiang, L.; Liu, M.; Chen, Y.C.; Ding, L.S.; Wu, Y. Asymmetric Michael addition of arylthiols to α,β -unsaturated carbonyl compounds catalyzed by bifunctional organocatalysts. *Synlett* **2005**, 4, 603-606;
c, Ye, J.; Dixon, D.J.; Hynes, P.S. Enantioselective organocatalytic Michael addition of malonate esters to nitro olefins using bifunctional cinchonine derivatives. *Chem. Comm.* **2005**, 35, 4481-4483;
d, McCooey, S.H.; Connon, S.J. Urea- and thiourea-substituted cinchona alkaloid derivatives as highly efficient bifunctional organocatalysts for the asymmetric addition of malonate to nitroalkenes: inversion of configuration at C9 dramatically improves catalyst performance. *Angew. Chem. Int. Edit.* **2005**, 44(39), 6367-6370.
- ³⁰ a, Wang, J.; Li, H.; Zu, L.; Jiang, W.; Xie, H.; Duan, W.; Wang, W. Organocatalytic Enantioselective Conjugate Additions to Enones. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128(39), 12652-12653;
b, Gu, C.L.; Liu, L.; Sui, Y.; Zhao, J.L.; Wang, D.; Chen, Y.C. Highly enantioselective Michael additions of α -cyanoacetate with chalcones catalyzed by bifunctional cinchona-derived thiourea organocatalyst. *Tetrahedron Asymmetry* **2007**, 18(4), 455-463;
c, Vakulya, B.; Varga, Sz.; Soos, T. Epi-cinchona based thiourea organocatalyst family as an efficient asymmetric Michael addition promoter: enantioselective conjugate addition of nitroalkanes to chalcones and α,β -unsaturated N-acylpyrroles. *J. Org. Chem.* **2008**, 73(9), 3475-3480.
- ³¹ Bode, C.M.; Ting, A.; Schaus, S.E. A general organic catalyst for asymmetric addition of stabilized nucleophiles to acyl imines. *Tetrahedron* **2006**, 62(4), 11499-11505.
- ³² Gioia, C.; Hauville, A.; Bernardi, L.; Fini, F.; Ricci, A. Organocatalytic asymmetric Diels-Alder reactions of 3-vinylindoles. *Angew. Chem. Int. Edit.* **2008**, 47(48), 9236-9239.
- ³³ Zhang, H.; Syed, S.; Barbas, C.F. Highly entio- and diastereoselective Mannich-reactions of glycine schiff bases with in situ generated N-Boc-imines catalyzed by a cinchona alkaloid thiourea. *Org. Lett.* **2010**, 12(4), 708-711.
- ³⁴ Chen, H.; Jiang, R.; Wang, Q.F.; Sun, X.L.; Luo, J.; Zhang, S.Y. Synthesis of chiral dihydrofuran compounds by thiourea derivatives-catalyzed "interrupted" Feist-Benary-reaction. *Chinese Chem. Lett.* **2010**, 21(2), 167-170.
- ³⁵ Hynes, P.S.; Stupple, P.A.; Dixon, D.J. Organocatalytic Asymmetric Total Synthesis of (R)-Rolipram and Formal Synthesis of (3S,4R)-Paroxetine. *Org. Lett.* **2008**, 10(7), 1389-1391.
- ³⁶ Jakubec, P.; Cockfield, D.M.; Dixon, D.J. Total synthesis of (-)-nakadomarin A. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131(46), 16632-16633.
- ³⁷ Amere, M.; Lasne, M.C.; Rouden, J. Highly enantioselective decarboxylative protonation of α -aminomalonates mediated by thiourea cinchona alkaloid derivatives: access to both enantiomers of cyclic and acyclic α -aminoacids. *Org. Lett.* **2007**, 9(14), 2621-2624.

- ³⁸ Jiang, L.; Zheng, H.T.; Liu, T.Y.; Yue, L.; Chen, Y.C. Asymmetric direct vinylogous carbon-carbon bond formation catalyzed by bifunctional organocatalysts. *Tetrahedron* **2007**, *63*(24), 5123-5128.
- ³⁹ Vachal, P.; Jacobsen, E.N. Enantioselective catalytic addition of HCN to ketoimines. Catalytic synthesis of quaternary amino acids. *Org. Lett.* **2000**, *2*(6), 867-870.
- ⁴⁰ Takemoto, Y. Recognition and activation by ureas and thioureas: stereoselective reactions using ureas and thioureas as hydrogen-bonding donors. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*(24), 4299-4306.
- ⁴¹ Hamza, A.; Schubert, G.; Soos, T.; Papai, I. Theoretical studies on the bifunctionality of chiral thiourea-based organocatalysts: competing routes to C-C bond formation. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*(40), 13151-13160.
- ⁴² Rokob, T.A.; Hamza, A.; Papai, I. Computing Reliable Energetics for Conjugate Addition Reactions. *Org. Lett.* **2007**, *9*(21), 4279-4282.
- ⁴³ Gouault, N.; Cupif, J.F.; Amoros, M.; David, M. Expedient method for the solid-phase synthesis of some 4-substituted-4,5-dihydropyridazin-3(2H)-ones. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2002**, *1*, 2234-2236.
- ⁴⁴ a, Malinka, W. Synthesis of some pyrrolo[3,4-*d*]pyridazinones and their preliminary anticancer, antimycobacterial and CNS screening. *Pharmazie* **2001**, *56*, 384-389;
b, Malinka, W.; Redzicka, A.; Lozach, O. New derivatives of pyrrolo[3,4-*d*]pyridazinone and their anticancer effects. *Il Farmaco* **2004**, *59*, 457-462.
- ⁴⁵ Jiang, J.K.; Boxer, M.B.; Van der Heiden M.G.; Amanda, M.S.; Skoumbourdis, P.; Southall, N.; Veith, H.; Leister, W.; Austin, C.P.; Park, H.W.; Inglese, J.; Cantley, L.C.; Auld, D.S.; Thomas, C.J. Evaluation of thieno[3,2-*b*]pyrrole[3,2-*d*]pyridazinones as activators of the tumor cell specific M2 isoform of pyruvate kinase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 3387-3393.
- ⁴⁶ Abd El-Ghaffar, N.F.; Mohamed, M.K.; Kadah, M.S.; Radwan, A.M.; Said, G.H.; Abd el Al, S.N. Synthesis and anti-tumor activities of some new pyridazinones containing the 2-phenyl-1*H*-indolyl moiety. *J. Chem. Pharm. Res.* **2011**, *3*(3), 248-259.
- ⁴⁷ Rathish, I.G. Javed, K.; Ahmad, S.; Bano, S.; Alam, M.S.; Akhter, M.; Pillai, K.K.; Ovais, S.; Samim, M. Synthesis and evaluation of anticancer activity of some novel 6-aryl-2-(*p*-sulfamylphenyl)-pyridazin-3(2H)-ones. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *49*, 304-309.
- ⁴⁸ Gaussian 03, Revision B.05, Frisch, M.J.; Trucks, G.W.; Schlegel, H.B.; Scuseria, G.E.; Robb, M.A.; Cheeseman, J.R.; Montgomery, J.A.Jr.; Vreven, T.; Kudin, K.N.; Burant, J.C.; Millam, J.M.; Iyengar, S.S.; Tomasi, J.; Barone, V.; Mennucci, B.; Cossi, M.; Scalmani, G.; Rega, N.; Petersson, G.A.; Nakatsuji, H.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Klene, M.; Li, X.; Knox, J.E.; Hratchian, H.P.; Cross, J.B.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R.E.; Yazyev, O.; Austin, A.J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J.W.; Ayala, P.Y.; Morokuma, K.; Voth, G.A.; Salvador, P.; Dannenberg, J.J.; Zakrzewski, V.G.; Dapprich, S.; Daniels, A.D.; Strain, M.C.; Farkas, O.; Malick, D.K.; Rabuck, A.D.; Raghavachari, K.; Foresman, J.B.; Ortiz, J.V.; Cui, Q.; Baboul, A.G.; Clifford, S.; Cioslowski, J.; Stefanov, B.B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskorz, P.; Komaromi, I.; Martin, R.L.; Fox, D.J.; Keith, T.; Al-Laham, M.A.; Peng, C.Y.; Nanayakkara, A.; Challacombe, M.; Gill, P.M.W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M.W.; Gonzalez, C.; Pople, J.A. Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, **2003**.

- ⁴⁹ Gaussian 09, Revision A.01, Frisch, M.J.; Trucks, G.W.; Schlegel, H.B.; Scuseria, G.E.; Robb, M.A.; Cheeseman, J.R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G.A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H.P.; Izmaylov, A.F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J.L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M. Nakajima, T.; Honda, Y., Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J.A.Jr., Peralta, J.E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J.J.; Brothers, E., Kudin, K.N.; Staroverov, V.N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J.C.; Iyengar, S.S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J.M.; Klene, M.; Knox, J.E.; Cross, J.B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R.E.; Yazyev, O.; Austin, A.J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J.W.; Martin, R.L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V.G.; Voth, G.A.; Salvador, P.; Dannenberg, J.J.; Dapprich, S., Daniels, A.D.; Farkas, O.; Foresman, J.B.; Ortiz, J.V.; Cioslowski, J.; Fox, D.J.; Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2009**.
- ⁵⁰ Brunner, H.; Buegler, J. Enantioselective catalysis. 106. 9-Amino (9-deoxy)cinchona alkaloids and their derivatives. *Bull. Soc. Chim. Belges* **1997**, 106(2), 77-84.
- ⁵¹ Yuan, Y.; Ye, S.; Zhang, L.; Wang, B.; Xu, Y.; Wang, J.; Wang, H. Studies on intramolecular hydrogen bonding of 1,1'-bis[*N*-formyl-*N'*-*p*-chlorophenylthiourea]ferrocene. *Inorg. Chim. Acta* **1997**, 256, 313–318.
- ⁵² McCulloch, B.; Brubaker, C.H.Jr.; 1,1'-Ferrocenediyl bis(dialkyldithiocarbamate) and ferrocenyl dialkyldithiocarbamate derivatives. *Organometallics* **1984**, 3, 1707-1711.
- ⁵³ Petrovich, P. Preparation of 1,1'-ferrocenylene diisocyanate. Study of addition with different diols. *Double-Liaison* **1966**, 133, 1093-109.
- ⁵⁴ Khan, M.S.U.; Nigar, A.; Bashir M.A.; Akhter, Z. A new ferrocene-containing polyamide prepared from an improved synthesis of 1,1'-ferrocene dicarbonyl chloride and ferrocene-based diamine. *Synt. Comm.* **2007**, 37(3), 473-482.
- ⁵⁵ Van Leusen, D.; Hessen, B. 1,1'-Diisocyanoferrocene and a Convenient Synthesis of Ferrocenylamine. *Organometallics* **2001**, 20(1), 224-226.
- ⁵⁶ Galow, T.H.; Rodrigo, J.; Cleary, K., Cooke, G.; Rotello, V.M. Fluorocarbonylferrocene. A Versatile Intermediate for Ferrocene Esters and Amides. *J. Org. Chem.* **1999**, 64(10), 3745-3746.
- ⁵⁷ a, Becke, A.D. A new mixing of Hartree-Fock and local-density-functional theories. *J. Chem. Phys.* **1993**, 98, 1372-1377;
b, Lee, C.; Yang, W.; Parr, R.G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys. Rev. B*, **1988**, 37, 785-789;
c, Perdew, J.P. *Electronic Structure of Solids '91*, Akademie Verlag, **1991** 11.
- ⁵⁸ Slater, T.F.; Sawyer, B.; Sträuli, U. Studies on succinate-tetrazolium reductase systems: III. Points of coupling of four different tetrazolium salts III. Points of coupling of four different tetrazolium salts. *Biochim. Biophys. Acta* **1963**, 77, 383–393.
- ⁵⁹ Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* **1983**, 65, 55–63.
- ⁶⁰ Liu, Y.B.; Peterson, D.A.; Kimura, H.; Schubert, D. Mechanism of cellular 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction. *J. Neurochem.* **1997**, 69,581–593.
- ⁶¹ Altman, F.P. Tetrazolium salts and formazans. *Prog. Histochem. Cytochem.* **1976**, 9, 1–56.

-
- ⁶² Denizot, F.; Lang, R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival: Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J. Immunol. Methods* **1986**, *89*, 271–277.
- ⁶³ a, Datki, Z.; Juhász, A.; Gálfi, M.; Soós, K.; Papp, R.; Zádori, D.; Penke, B. Method for measuring neurotoxicity of aggregating polypeptides with the MTT assay on differentiated neuroblastoma cells. *Brain Res. Bull.* **2003**, *62*, 223–229;
b, Datki, Z.; Papp, R.; Zádori, D.; Soós, K.; Fülöp, L.; Juhász, A.; Laskay, G.; Hetényi, C.; Mihalik, E.; Zarándi, M.; Penke, B. *In vitro* model of neurotoxicity of A β 1–42 and neuroprotection by a pentapeptide: irreversible events during the first hour. *Neurobiol. Dis.* **2004**, *17*, 507–515;
c, Biedler, J.L.; Roffler-Tarlov, S.; Schachner, M.; Freedman, L.S. Multiple Neurotransmitter Synthesis by Human Neuroblastoma Cell Lines and Clones. *Cancer Res.* **1978**, *38*, 3751–3757;
d, Biedler, J.L.; Helson, L.; Spengler, B.A. Morphology and growth, tumorigenicity, and cytogenetics of human neuroblastoma cells in continuous culture. *Cancer Res.* **1973**, *33*, 2643–2652.
- ⁶⁴ Zhao, Y.; Truhlar, D.G. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals. *Theor. Chem. Acc.* **2008**, *119*(5-6), 525–527.
- ⁶⁵ a, Miertus, S.; Scrocco, E.; Tomasi, J. Electrostatic interaction of a solute with a continuum. A direct utilization of ab initio molecular potentials for the prevision of solvent effects. *Chem. Phys.* **1981**, *55*, 117–129;
b, Pascual-Ahuir, J.L.; Silla, E.; Tunon, I. GEPOLE: an improved description of molecular surfaces. III. A new algorithm for the computation of a solvent-excluding surface. *J. Comp. Chem.* **1994**, *15*, 1127–1138.
- ⁶⁶ Lothrop, W.C.; Handrick, G.R.; Hainer, H.M. The structure and infrared absorption spectra of polynitrophenylmethyl nitramines and polynitroanilines, *J. Am. Chem. Soc.*, **1951**, *73*, 3581–3584.
- ⁶⁷ Boring, D.L.; Ji, X.D.; Zimmet, J.; Taylor, K.E.; Stiles, G.L.; Jacobson, K.A. Trifunctional Agents as a Design Strategy for Tailoring Ligand Properties: Irreversible Inhibitors of A1 Adenosine Receptors? *Bioconjugate Chem.* **1991**, *2*, 77–88
- ⁶⁸ Correc, O.; Guillou, K.; Hamelin, J.; Paquin, L.; Texier-Boullet, F.; Toupet, L. Microwave solvent-free synthesis of nitrocyclohexanols. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 391–395.
- ⁶⁹ Sohler, E.; Truchlik, S.; Vanek, J. 1-Phenyl-4,5-dichloro-6-oxo-1H-pyridazine, *Czech.*, **1983**, 220299.
- ⁷⁰ Gyoemoere, A.; Csampai, A. Synthesis and structure of planar chiral ferrocene[d]-pyridazinones, the first representatives of a novel class of fused metallocenes. *J. Organomet. Chem.* **2011**, *696*(8), 1626–1631.
- ⁷¹ Karolyi, B.I.; Bosze, Sz.; Orban, E.; Sohar, P.; Drahos, L.; Gal, E.; Csampai, A. Acylated mono-, bis- and tris- cinchona-based amines containing ferrocene or organic residues: synthesis, structure and in vitro antitumor activity on selected human cancer cell lines. *Molecules* **2012**, *17*(3), 2316–2329.
- ⁷² Károlyi, B.I.; Fábián, A.; Kovács, Z.; Varga, Sz.; Drahos, L.; Sohar, P.; Csámpai, A. DFT analysis of a key step in the cinchona-mediated organocatalytic Michael-addition of nitromethane to 1,3-diphenylpropanone. *Comp. Theor. Chem.* **2012**, *996*, 76–81